

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und aus dem Institut für Hämatologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München (Leiter: Priv.-Doz. Dr. S. Thierfelder)

Vergleichende Untersuchungen der Proliferation und
morphologischen Veränderungen von Knochenmark-
zellen bei Alkoholikern, Patienten mit Leberzirrhose
und Normalpersonen in vivo und in vitro

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Klaus-Richard Weingärtner

aus Würzburg

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und aus dem Institut für Hämatologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München (Leiter: Priv.-Doz. Dr. S. Thierfelder)

Vergleichende Untersuchungen der Proliferation und
morphologischen Veränderungen von Knochenmark-
zellen bei Alkoholikern, Patienten mit Leberzirrhose
und Normalpersonen in vivo und in vitro

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Klaus-Richard Weingärtner

aus Würzburg

Referent: Professor Dr.med.Irene B o l l

Korreferent: Professor Dr.med.Walther P r i b i l l a



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 6. Juni 1973

Meinen Eltern

INHALT

Einführung	S. 7
Problemstellung	S. 13
Methode	S. 16
Material	S. 22
Ergebnisse	S. 32
Signifikanzberechnung	S. 53
 Besprechung der Ergebnisse	 S. 56
A Proliferation der Knochenmarkzellen	S. 56
1. Erythropoese von chron. Leberpatienten	S. 56
2. Granulopoese von chron. Leberpatienten	S. 57
3. Erythropoese von Alkoholikern	S. 58
4. Granulopoese von Alkoholikern	S. 59
B Zellmorphologie der Knochenmarkausstriche	S. 63
1. Allgemeine pathologische Veränderungen	S. 63
2. Spezielle pathologische Veränderungen	S. 63
3. Prozentualer Anteil der Vakuolen	S. 65
 Diskussion	 S. 68
Zusammenfassung	S. 75
Literaturverzeichnis	S. 77

ALLE DINGE SIND GIFT,
UND NICHTS OHNE GIFT,
ALLEIN DIE DOSIS MACHT,
DASS EIN DING KEIN GIFT IST.

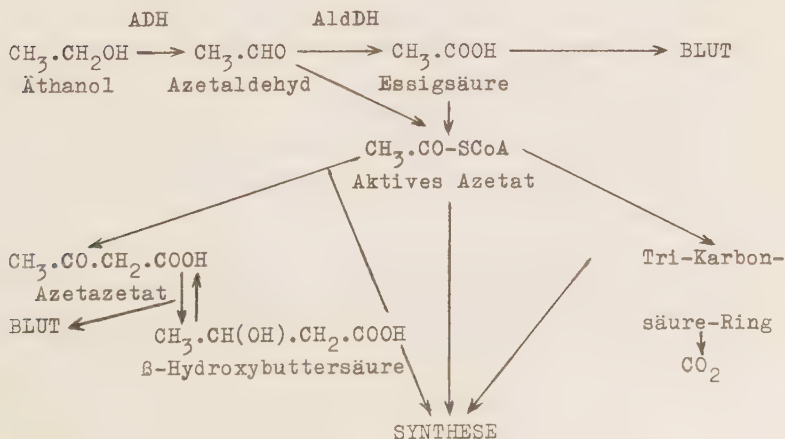
Paracelsus

EINFÜHRUNG

Äthylalkohol, auch Äthanol, Weingeist, Spiritus oder kurz Alkohol genannt, eine Substanz, die man als Droge, Nährstoff oder Toxin bezeichnen kann, ist bereits einige Minuten nach oraler Gabe im Blut nachweisbar und erreicht in 45 - 90 Minuten je nach Nahrungsaufnahme einen maximalen Wert. Die Resorption erfolgt zu ca 20% vom Magen, der Rest wird vom Dünndarm aufgenommen (35).

Alkohol wird nach Aufnahme im Körper in zwei Stufen oxydiert, wobei zunächst eine teilweise Aufspaltung in der Leber unter Bildung einiger Metaboliten stattfindet, welche nach Abtransport außerhalb der Leber zu Kohlendioxyd oxydiert werden (16).

Aus den von FORSANDER mit markiertem Äthanol durchgeführten Versuchen ergibt sich schematisiert folgendes Bild des Alkoholstoffwechsels (16):



Als Dehydrogenasen kommen in der Leber die Alkohol- und Aldehyddehydrogenasen vor, letztere in viel größerer Aktivität (16). Trotzdem scheint nicht die Alkoholdehydrogenasereaktion die Rate der Alkoholverbrennung zu begrenzen, sondern das Vorhandensein von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) (16).

Weitere Möglichkeiten der Alkoholverbrennung sind Systeme von Mikrosomen, wie sie LIEBER (38,41) beschrieben hat. Diese Mechanismen sind allerdings nur bei Tierversuchen untersucht worden. Das Vorhandensein eines Alkohol-Oxydationssystems in den Mikrosomen, das fähig ist, je nach Alkoholverabreichung zu reagieren, könnte nach Meinung von LIEBER eine Anzahl ultrastruktureller, pharmakologischer und biochemischer Wirkungen von Alkohol erklären (37).

Die Giftwirkung des Alkohols, die vor allem die Zellen der Großhirnrinde, aber auch die Zellen aller anderen Gewebe betrifft, beruht nach RAPOPORT zumindest teilweise auf der Bildung von Azetaldehyd durch eine unspezifische Alkoholdehydrogenase (50).

"Wie bei anderen Giften ist auch die Empfindlichkeit gegenüber Alkohol individuell verschieden. Klinisch nachweisbare Alkoholwirkungen findet man bei 50% der Menschen bei Konzentrationen von ca 1‰ Alkohol im Blut. Bei Konzentrationen von 2-2,5‰ sind praktisch genommen alle Menschen sichtlich beeinflusst, oft in schwerem Grade. Bei 3‰ sind die meisten Menschen schwer betrunken. Die letale Konzentration im Blut beträgt ca 3,5-5‰" (CASIER und Mitarbeiter, KAYE und HAAG) (45).

Es ist eine schon lange bekannte Tatsache, daß chronischer Alkoholgenuß verheerende Folgen haben kann, die in Form von somatischen, psychischen und neurologischen Schäden

auftreten, Neben den drei Formen der alkoholinduzierten Leberschädigung, wie die Fettleber, die sogenannte akute Alkoholhepatitis und die Zirrhose sind an extrahepatischen Alkoholeinwirkungen bekannt: Alkoholpankreatitis, alkoholbedingte Neuritis, alkoholinduzierte Veränderungen der Magensaftsekretion und der enteralen Resorption sowie der Wirkung des Alkohols auf die Nieren (19). Die durch Alkoholintoxikation verursachten Schäden können zum Korsakowsyndrom führen, sowie zu Haluzinationen und zum Delirium tremens (35).

Während diese Schäden schon lange bekannt sind, sind die morphologischen Phänomene bei chronischem Alkoholkonsum im zellulären Bereich des Knochenmarks neueren Datums.

v.OLDERSHAUSEN findet bei Alkoholikern eine 2-3fach gesteigerte Erythropoese (47). PRIBILLA (49) stellt eine deutlich höhere Zahl von Proerythroblasten im Knochenmark von Alkoholikern fest als im Normalmark. Er deutet dies als eine vorübergehende Reifungshemmung infolge der Intoxikation. Mc FARLAND berichtet von 10 Alkoholikern, die wegen einer fieberhaften bakteriellen Infektion zur Krankenhausaufnahme kamen und sämtlich eine Leukopenie aufwiesen. Er nimmt jedoch an, daß eine teilweise Störung der Leberfunktion vorlag (43). Da die bei Kranken mit Leberzirrhose beobachteten Leukopenien allgemein auf eine splenomegale Markhemmung zurückgeführt werden, hält Mc FARLAND eine solche durch Alkohol ebenfalls für möglich (43). Weiter nimmt er infolge häufiger Vakuolisierung der granulozytären Reihe an, daß chronischer Alkoholismus zu einem Abbau der Granulozytenreserve führt.

Bei Alkoholschäden können nach v.OLDERSHAUSEN auch Stoffwechselveränderungen im Vordergrund stehen (46). Von einer Stoffwechselveränderung in den Zellen selbst berichtet

POST bei den Thrombozyten (48). AMNON beschreibt einen Versuch an Mäusen, bei denen er eine Störung der ATP-Synthese infolge Alkohol feststellen konnte (1).

KILLBRIDGE setzt das ermittelte Erythrozytenvolumen mit anderen hämatologischen und klinischen Befunden in Beziehung und führt die Makrozytose bei Patienten mit alkoholbedingter Zirrhose entweder auf eine Megaloblastose des Knochenmarks oder auf eine beschleunigte Ausstoßung der jugendlichen roten Blutzellen in das periphere Blut zurück (30).

Das gelegentliche Vorkommen von megaloblastischen Zellen im Knochenmark von Alkoholikern wird von PRIBILLA (49) bestätigt. Nach SULLIVAN und HERBERT (57) haben hohe Alkoholgaben nicht nur eine hemmende Wirkung auf die Erythropoese, Leukopoese und Thrombopoese zur Folge, sondern führen auch zu einer Umwandlung vom normoblastischen zum megaloblastischen Knochenmark und zum Anstieg der Serum-eisenkonzentration. HALSTED, GRIGGS und HARRIS (23) stellen fest, daß ein Alkoholabusus die Folsäureresorption signifikant herabsetzt.

V a k u o l e n im Bereich des Zytoplasmas bei Vorstufen der roten und weißen Reihe wurden erstmals 1962 von MC CURDY, PIERCE und RATH bei schweren Alkoholismen festgestellt (41). Inzwischen wurden die Vakuolen zytologisch und elektronenmikroskopisch schon des öfteren untersucht (12, 34, 44, 61, 63), doch konnte hinsichtlich Entstehung und Struktur noch keine befriedigende Aussage gemacht werden. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen glaubte MERKER (44), es seien hydrophile Anschwellungen des Ergastoplasmas oder der Mitochondrien. WATERS (61) konnte diese Vakuolen weder mit Schiff'scher Base, noch mit Sudan-Rot anfärben und folgerte, sie könnten kein Glykogen und keine Lipide enthalten. BOLL und BEISSEL konnten sie nicht mit Sudan-Schwarz B und

Janus-Grün darstellen und verneinten die Identität mit Neutralfett und Mitochondrien (12). Ebenfalls sind sie nicht mit den Vakuolen, die bei Riboflavinmangel (32,36) festgestellt wurden, identisch (40).

Die in Knochenmarkproben verschiedener Alkoholiker von BOLL und von WESTERNHAGEN (12) mit Hilfe der Kinematographie im Zytoplasma der Proerythroblasten und Erythroblasten beobachteten Vakuolen hatten im allgemeinen einen Durchmesser von 2-3 μ und besaßen im Phasenkontrastmikroskop keine dunklen membranähnlichen Strukturen. Sie bewegten sich im Zytoplasma und nahmen an Größe zu.

In verschiedenen Arbeiten wird übereinstimmend berichtet, daß sämtliche Vorgänge in der Zelle reversibel sind (49,57), d.h. das Vorkommen vakuolenhaltiger Zellen nimmt nach Beendigung der Noxe schnell ab, um bei erneuter Intoxikation wieder anzusteigen.

Es ist also offensichtlich, daß Alkohol nicht nur einen zerstörenden metabolischen Effekt auf die Leberzellen ausübt, sondern auch auf die Knochenmarkszellen. Allerdings sind die für die hämatopoetische Toxizität verantwortlichen Induktionsmechanismen noch sehr lückenhaft bekannt.

Eine Erklärung für die Entstehung der Plasmavakuolen sehen viele Autoren im Folsäuremangel und in einer gesteigerten Folsäureresorption. LINDENBAUM und LIEBER konnten allerdings zeigen, daß selbst ohne Folsäure-Defizit Anomalien in reifenden Blutzellen auftraten (40). Sie vertraten daher im Gegensatz zu anderen Autoren (L.W.SULLIVAN und V.HERBERT) die Auffassung, daß Alkohol weniger einen hämatosuppressiven als vielmehr einen hämatotoxischen Effekt ausübt.

L e b e r e r k r a n k u n g e n , die bei Alkoholikern so häufig sind, daß an einer Beziehung zwischen der Leberveränderung und der chronischen Intoxikation nicht gezweifelt werden kann, scheinen die Vakuolisierung noch zu fördern. So ist bekannt, daß Chloramphenicol, nach dessen Verabreichung morphologisch die gleiche Vakuolenbildung beobachtet wurde (42), eine verstärkte toxische Wirkung auf das Knochenmark ausübt, wenn beim Patienten eine Einschränkung der Leberfunktion vorliegt (58).

Schon seit langer Zeit - 1904 - wird vermutet, daß die Leberfunktion die Erythropoese beeinflußt (7,22,54,60). Es ist jedoch nicht geklärt, ob diese Funktionsstörungen einen direkten Einfluß auf die Erythroblasten haben, was man allerdings in vivo feststellen müßte. Bei chronisch Leberkranken werden hämatologische Veränderungen (17,26) in Form von Makrozytose und Anämie (5,6,21,25,56) beobachtet. Als Faktoren werden unter anderem Folsäuremangel, besonders bei Alkoholikern (26,28,29,31) und Vitamin B₁₂-Mangel (28,29,31,56) angegeben.

STROHMEIER (56) beschreibt Untersuchungen mit ⁵¹Cr bei Patienten mit Leberzirrhose und stellt dabei eine verkürzte Erythrozytenlebenszeit, ein erhöhtes Blutvolumen und ein vergrößertes Gesamterythrozytenvolumen fest. Außerdem findet er eine gesteigerte Erythrozytopoese, was sich an einer Erhöhung des Erythrozyteneisenumsatzes zeigt. STROHMEIER hält dies für einen Kompensationsvorgang, d.h. die gesteigerte Erythrozytenkinetik erfolgt, um die Verkürzung der Erythrozytenlebenszeit zu kompensieren und eine Anämie zu verhindern. Eine deutlich gesteigerte Erythropoese mit zunehmender Leberschädigung wird auch von anderen Autoren beschrieben (3,4,52,59,60). Eine Linksverschiebung in der roten Reihe ist ebenfalls bekannt (52,60).

im Kontrast zur Steigerung der Erythropoese berichtet HON BING TAI (59) in Übereinstimmung mit BERMANN (3,4) von einer Verringerung der Granulopoese, die bei atrophischen Zirrhosen nur noch 41% der Norm beträgt. Er macht weiterhin die Beobachtung, daß der absolute Gehalt an Myeloblasten und Promyelozyten fast unverändert konstant bleibt. Erst die späteren Reifungsstufen zeigen eine erhebliche Minderung (24,52).

In den granulopoetischen Zellen sollen nach ROHR (52) V a k u o l e n bei schwerem Leberleiden und besonders im Coma hepaticum vorkommen.

PROBLEMSTELLUNG

Die bei Patienten mit Alkoholabusus und mit chronischen Lebererkrankungen bisher getroffenen qualitativen und quantitativen Aussagen im Bereich der Granulopoese und der Erythropoese beruhen ausschließlich auf der Differenzierung von in vivo gewonnenen Knochenmark-Ausstrichen. In vivo lassen sich aber der Übertritt der reifen Zellen ins Blut und somit die hintereinandergeschalteten zytopoetischen Entwicklungsstadien quantitativ nicht exakt erfassen. Man hat immer nur ein Momentbild vor sich. Es wurde die Auswertung von Knochenmark - K u l - t u r e n gewählt, da sie erlauben, außer der Regeneration die Reifung zu beurteilen und eventuelle vorhandene morphologische Veränderungen während der 3 Beobachtungstage verschwinden könnten.

Folgende Fragen sollen im Rahmen dieser Arbeit geklärt werden:

A: Zur Proliferation

1. Verändert sich die Reifung des Knochenmarks (Erythropoese und Granulopoese) von Alkoholikern bzw.

von Leberpatienten ohne Alkoholanamnese im Vergleich zum Gesunden nach Differentialzählung in vitro?

2. Wie verhält sich die Regeneration (mitotische Zellteilung der Erythropoese und Granulopoese) bei diesen Patienten im Vergleich mit der Norm?
3. Ist die Häufigkeit einzelner Mitosephasen verschoben?
4. Wie ist das relative Verhalten von Granulopoese zu Erythropoese?

B: Zur Vakuolenbildung im Zytoplasma

Die morphologischen Phänomene im zellulären Bereich des Knochenmarks bei chronischen Alkoholikern und bei Leberkranken ohne Alkoholabusus sind bereits mehrfach beschrieben. Jedoch herrscht immer noch Unklarheit über die Entstehung und Struktur der Vakuolen in den Vorstufen der roten und weißen Reihe. Deswegen sollen weiterhin folgende Fragen untersucht werden:

5. Könnte möglicherweise die Leber durch chronische Alkoholintoxikation primär geschädigt werden und dieser Schaden sekundär auf die Knochenmarkszellen wirken, d.h. treten bei schweren Leberleiden, die von Alkohol unbeeinflusst sind, ebenfalls Vakuolen auf?
6. Führt chronischer Alkoholabusus möglicherweise zu einem hypoxischen Milieu im Knochenmark, also zu einem Zustand, der den Bedingungen in vitro entspräche? Stellen sich also die Vakuolen auch bei Personen, die in vivo ein morphologisch unauffälliges Knochenmark hatten, in vitro ebenfalls ein und kommen diese Vakuolen bei anderen Erkrankungen mit Hypoxie im Knochenmark, z.B. durch schwere Anämie, vor?

Methodisch werden Differentialzählungen von Kulturen der Patienten durchgeführt und somit folgende Parameter errechnet:

- ad 1 Reifungskurven bis zu einer Kulturzeit von 72 Std. Dabei werden rote und weiße Reihe getrennt graphisch dargestellt.
- ad 2 werden die Mitoseindices (Anzahl der Mitosen, bezogen auf die Gesamtzahl der teilungsfähigen Zellen) in vivo und an den einzelnen Kulturtagen ermittelt. Angabe dieser Indices erfolgt in ‰. An teilungsfähigen Zellen finden sich in der Erythropoese: Proerythroblasten, basophile, polychromatische und orthochromatische Erythroblasten, in der Granulopoese: Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten.
- ad 3 caryologische Kurven der Mitosephasen.
- ad 4 tabellarische Auswertung der G/E Indices, die das relative Verhältnis von allen granulopoetischen zu allen erythropoetischen Zellen wiedergeben.
- ad 5 tabellarische Erfassung von Vakuolen (in ‰) bei Alkoholiker-Knochenmark in Kultur und bei Leberpatienten ohne Alkoholabusus zum Vergleich.
- ad 6 wird das relative Verhalten der vakuolisierten zu den nicht vakuolisierten Zellen während der Kultivierung bei Alkoholikern, bei Leberinsuffizienten, bei Patienten mit perniziöser und anderer schwerer Anämie, mit akuten Leukämien und bei Normalpersonen ermittelt und graphisch aufgezeichnet.

METHODE

Anfertigung der Präparate

Die Gewinnung des Knochenmarks erfolgte durch in Lokalanästhesie durchgeführte Sternalpunktionen. Von jedem Sternalpunktat wurde zunächst ein Originalausstrich angefertigt. Zur Überlebenserhaltung des gewonnenen Knochenmarks wurde es nach der von BOLL (9), in Anlehnung an die CARELL'sche Technik (13), beschriebenen Methode der Gewebezüchtung am hängenden Koagulumtropfen in Kultur gesetzt. Das zur Koagulation gebrachte Medium bestand aus:

- 50% Nativplasma des betreffenden Patienten
- 10% Corhormon^R (dreifach verstärkt) und
- 40% HANK'scher Lösung

Auf das auf einem Objektträger befindliche Koagulum wurde ein Knochenmarkbröckel aufgelegt, mit einem Tröpfchen Serum überschichtet und ein Hohlschliffobjektträger nach Gerinnung aufgesetzt. Die durch Hartparaffin luftdicht abgeschlossenen Kulturen wurden im Brutschrank bei 37°C bis zu 72 Stunden inkubiert und nach 24 Std., 48 Std. und 72 Std. ausgestrichen. Bei einem Alkoholiker wurden noch zusätzlich nach 6 Std., 20 Std. und 30 Std. Ausstriche angefertigt. Die Ausstriche wurden luftgetrocknet, fixiert und mit May-Grünwald-Lösung und mit Giemsa-Lösung nach PAPPENHEIM gefärbt.

Auswertung der Präparate

Da bei Knochenmarkkulturen nicht die absolute Zellzahl der Population bestimmt werden kann, wurde nach dem Stichprobenverfahren der relative Anteil der einzelnen zytopoetischen Entwicklungsstadien bestimmt. Nachdem man sich zunächst mit kleiner Vergrößerung einen

Überblick über den Zellgehalt des Punktates verschafft hatte, suchte man sich gut gefärbte Stellen mit gelockertem Zellgehalt - gewöhnlich waren es die Randpartien des Präparates - aus, um so eine gleichmäßige Zellverteilung zu garantieren und um die Zelltypen exakt differenzieren zu können. Diese Stellen wurden mit Ölimmersionsvergrößerungen mäanderförmig ausgezählt. Da in dieser Arbeit eine Aussage über die Vakuolisierung der einzelnen Zelltypen erfolgen sollte, wurden nur solche Bezirke des Präparates ausgewertet, in denen die Zellen ungeschädigt aussahen. Vakuolisierte Zellen, die von offensichtlich degenerierten Zellen umgeben waren, blieben unberücksichtigt, da sie das Ergebnis verfälscht hätten.

Von jedem Präparat wurden 2000 Zellen und die darauf entfallenden Mitosen differenziert. Es wurde weiterhin darauf geachtet, ob und wieviel Vakuolen gegebenenfalls in den einzelnen Zelltypen vorlagen.

Bei einigen 72 Stunden-Präparaten allerdings wurden nur 1000 Zellen, infolge der fast völligen Ausreifung der roten Reihe und der gelegentlich bis zur Unkenntlichkeit starken Verklumpung der Zellen, ausgezählt.

Megakaryozyten, Plasmazellen, Retikulumzellen, Lymphozyten, Monoblasten und Monozyten wurden zwar mitgezählt aber nicht ausgewertet.

Von allen untersuchten Patienten wurde gleichzeitig ein Blutbild angefertigt und die üblichen Leberfunktionsprüfungen durchgeführt.

Einteilung der Zellarten

In der roten Reihe wurden unterschieden:

1. Proerythroblast (PE)
2. Basophiler Erythroblast (bE)
3. Polychromatischer Erythroblast (pE)
4. Oxyphiler Erythroblast (oE)
5. Reifer Erythroblast (rE)

In der weißen Reihe wurden unterschieden:

1. Myeloblast (Mb)
2. Promyelozyt (P)
3. Neutrophiler Myelozyt (M)
4. Eosinophiler Myelozyt (eM)
5. Basophiler Myelozyt (bM)
6. Monoblast (Mo)
7. Metamyelozyt (MM)
8. Stabkerniger Granulozyt (St)
9. Neutrophiler Segmentkerniger (S)
10. Eosinophiler Segmentkerniger (ES)
11. Monozyt (MC)

Mitosephasen wurden nach BOLL (9) wie folgt eingeordnet:

1. Prophase (P):

Die Kernmembran und die Nukleolen sind aufgelöst, die Chromosomen als dichte Fäden im festen Spirem mit hellen Zwischenräumen sichtbar.

2. Frühe Metaphase (fM):

Die Chromosomen liegen ungeordnet im lockeren Spirem über die Zellen verteilt.

3. Späte Metaphase (sM):

Stadium der Äquatorialplatte, die in der Aufsicht als Monaster mit sternförmig angeordneten Chromosomen erkennbar ist.

4. Anaphase (A):

Die Chromosomen sind in 2 Gruppen angeordnet und bilden einen Diaster.

5. Telophase (T):

Die Taillenbildung des Zelleibes ist erkennbar, die Chromosomen der Tochterzellen liegen in beiden Zellhälften als lockeres Dispirem.

6. Rekonstruktionsphase (R):

Zwischen beiden sich spiegelbildlich gleichenden Tochterzellen ist gelegentlich noch ein feiner Plasmafaden erkennbar; die Chromosomen jeder Zelle liegen in festem Dispirem, Kernmembran und Nukleolen sind noch nicht wieder ausgebildet.

Die morphologische Differenzierung erfolgte in Anlehnung an BOLL (9, 10):

Proerythroblast (15-20 μ Ø):

- Kern: 10-17 μ Ø, rund, groß mit feinkörnigem Chromatingerüst.
- Plasma: Intensiv blauer, schmaler Zytoplasma-
saum, dessen Spezifikum Plasmaausstü-
lungen, die sogenannten "Öhrchen" sind.

Basophiler Erythroblast (8-15 μ Ø):

- Kern: 7-10 μ Ø, grobschollig, häufig radiär
angeordnete Chromatinstruktur.
- Plasma: Mittelstarke bis starke Basophilie
Kern-Plasma-Relation zugunsten des
Plasma verschoben.

Polychromatischer Erythroblast (8-12 μ Ø):

- Kern: 6-8 μ Ø, scharf konturiert, radspeichen-
artig angeordnetes Chromatin.
- Plasma: Variiert je nach Reife und nimmt durch
Hämoglobineinlagerungen eine Schattie-
rung von bläulich bis grauviolett und
grauorange an.

Oxyphiler Erythroblast (7-10 μ Ø):

- Kern: 5,5-7 μ Ø, dicht, aber noch struktu-
riert.
- Plasma: Farbe wie umgebende Erythrozyten.

Reifer Erythroblast (7-10 μ Ø):

- Kern: Pyknotisch, dunkelviolett ohne erkenn-
bare Strukturen.
- Plasma: Hat meist die orange Färbung der Ery-
throzyten, kann aber bei Kern-Plasma-
Reifungsdissoziationen auch noch poly-
chromatisch oder schwach basophil sein.

Myeloblast (10-15 μ Ø):

- Kern: Infolge seiner dichten und feinmaschigen
Chromatinstruktur wirkt er etwas verwa-
schen. Meist sind 1-5 Nukleolen erkennbar.
- Plasma: Hellbasophil, schmaler Saum, noch nicht
azurophil granuliert.

Promyelozyt (16-27 μ Ø):

Kern: Rund, oval, manchmal einseitig abgeflacht.

Plasma: Enthält eine typische, azurophile Granulation und gelegentliche Aufhellungen in der Nähe der Kernbucht. Größenzunahme erfolgt hauptsächlich zugunsten des Zytoplasmas.

Neutrophiler Myelozyt (14-18 μ Ø):

Kern: Länglich-oval, auch angedeutet bohnenförmig; Chromatin inhomogen.

Plasma: Grau-rosa mit feinen neutrophilen Granula. Im Bereich der Kernbucht häufig helle Zentrosphäre.

Eosinophiler Myelozyt (14-18 μ Ø):

Wie neutrophiler Myelozyt, allerdings wird hier das Plasma von plumpen, eosinophilen Granula überdeckt.

Basophiler Myelozyt (14-18 μ Ø):

Wie eosinophiler Myelozyt, nur liegen hier basophile Granula vor.

Monoblast (ca 25 μ Ø):

Kern: Oft einseitige Einbuchtung, grobfädiges lockeres Chromatin.

Plasma: Rauchblau gefärbt mit sehr zarter Azurgranulation.

Metamyelozyt (14-18 μ Ø):

Kern: Stärker eingebuchtet als beim Myelozyten (bohnenförmig) mit grobscholligem Chromatin.

Plasma: Wie Myelozyt, aber ohne Zentrosphäre.

Stabkerniger Granulozyt (14-18 μ Ø):

Wie Metamyelozyt, allerdings ist er bereits C- oder S-förmig und von grobscholliger Chromatinstruktur. Vorhandene Einbuchtungen sind möglich. Die Verbindungen sind jedoch noch breiter als $\frac{1}{3}$ des Kerns.

Neutrophiler Segmentkerniger (10-15 μ Ø):

Wie stabkerniger Granulozyt, die Einschnürungen am Kern gehen jedoch so weit, daß 3 bis 4 Segmente entstehen, die nur noch durch fadenförmige Brücken verbunden sind.

Eosinophiler Segmentkerniger (10-15 μ Ø):

Kern: Besteht meist nur aus 2 Segmenten, die fadenförmig verbunden sind.

Plasma: Starke, kleinkugelige, eosinophile Granulation.

Basophiler Segmentkerniger (10-15 μ Ø):

Wie eosinophiler Segmentkerniger, nur liegt hier basophile Granulation vor.

Monozyt (ca 20 μ Ø):

Kern: Groß, eingebuchtet und vielseitig gelappt mit grobmaschigem Chromatingerüst.

Plasma: Rauchblau

MATERIAL

In dieser Arbeit kamen circa 70 000 Zellen zur Auswertung. Diese gliederten sich im einzelnen in das Zellmaterial von:

LEBERPATIENTEN: Es wurden 3 chronisch Leberkranke ohne Alkoholanamnese untersucht und von den Kulturen insgesamt 21 000 Zellen ausgezählt.

ALKOHOLIKERN: 8 Alkoholiker wurden einer Untersuchung unterzogen. Der Alkoholabusus war bei diesen Patienten meist seit vielen Jahren bekannt. Es handelte sich um Schnaps-, Bier- und Wermuttrinker. Der tägliche Alkoholkonsum konnte nicht exakt festgestellt werden. Von diesen Patienten gelangten allerdings nur 4 zur Auswertung. Lag die Sternalpunktion nämlich länger als 3 Tage nach Krankenhausaufnahme zurück, so war die Vakuolisierung normalerweise nicht höher als bei Normalpersonen, wie es auch von anderen Autoren beschrieben war (49,57). Das Knochenmark einer Patientin (N.E.) allerdings, deren Sternalpunktion erst am 5. Tag nach Krankenhausaufnahme erfolgte, zeigte noch eine deutliche Vakuolenbildung. Erwähnenswert ist jedoch, daß diese Patientin mit einer alkoholinduzierten akuten Hepatopathie und einer Blutungsanämie eingeliefert wurde.

Alkoholiker, deren Sternalpunktat kaum vakuolisiert war, blieben unberücksichtigt. Infolge mangelhafter Kultur konnte in einem Fall nur das Originalpräparat ausgewertet werden.

Das verwendete Untersuchungsmaterial wurde somit 2 Alkoholikern mit Leberschaden, einem ohne erkennbaren Leberschaden und einem 14-jährigen Jungen, der infolge einer ersten akuten Alkoholintoxikation eingeliefert wurde, entnommen.

NORMALPERSONEN: Als vergleichbare Normalwerte für Reifung, Regeneration, caryologische Kurven und G/E Indices dienten die in unserem Labor mit gleicher Methode bestimmten Mittelwerte von 24 Normalpersonen in der Granulopoese und von 19 in der Erythropoese (10,11). Um für die Beurteilung der Vakuolisierung vergleichbare Werte zu erhalten, wurden 16 000 Zellen von 2 hämatologisch unauffälligen Personen hinsichtlich des Gehaltes an Vakuolen zusätzlich untersucht.

Patienten mit PERNICIÖSER ANÄMIE: Die Originalpräparate von 13 Patienten mit perniziöser Anämie wurden zunächst mit 25facher Vergrößerung auf Vakuolen untersucht. Die Präparate, bei denen die Vakuolisierung mit der Übersichtsvergrößerung über dem Normbereich lag (4 Fälle), wurden sodann ausgewertet und jeweils 1000 Zellen ausgezählt. Bei einem Patienten wurde die Vakuolisierung bis zu 48 Stunden verfolgt. Es wurden somit 6000 Zellen differenziert.

Einem Patienten mit niedrigem Hb-GEHALT: Es wurde ein Patient, der weder einen Anhalt für eine Leukämie, noch für eine perniziöse Anämie, noch für Alkoholabusus bot und der laut Sektionsbericht an einem Herzkreislaufversagen bei vorhandener abscedierenden Pyelonephritis, coronarsklerotischem Schwielenherz, Ulkus ventrikuli, verstarb, auf Grund seines Hb-Wertes von 5g% hinsichtlich von eventuellen Vakuolen untersucht und bis 72 Stunden ausgewertet. Die Sternalpunktion erfolgte unmittelbar nach Einlieferung, so daß eine Beeinflussung durch Medikamente ausgeschlossen war. Es wurden bei ihm 5000 Zellen differenziert.

Patienten mit AKUTER LEUKÄMIE: Es wurden 28 Patienten mit einer akuten Leukämie hinsichtlich einer eventuellen Proportionalität des Hb-Gehaltes des Patienten zur Vakuolisierung durchmustert.

FALL 1: Patient H.Ella, 76 Jahre

Einweisung:

25.10.1968

Diagnose:

Coma bei einer Leberzirrhose mit portaler Stauung,
wahrscheinlich eine Ammoniak-Encephalopathie

Alkohol:

Keine Alkoholanamnese

Knochenmarkdiagnose:

Stellenweise erhebliche retikulär-lymphozytäre
Reaktion, angeregte Erythropoese

Therapie vom 10.11. bis zur Sternalpunktion am
18.11.1968:

Nadisan ^R	2,0 g	5 Tage lang
Thioctacid ^R	2 Amp	5 Tage lang
Valium ^R	10 mg	
Rastinon ^R	2,0 g	2 Tage lang

Blutbild vom 18.11.1968:

Erythrozyten:	2,82 Mill/mm ³
Hb.:	9,2 g%
HbE:	34,4 pg
Thrombozyten:	66 000/mm ³
Leukozyten:	6 500/mm ³
Segmentkernige:	73%
Stabkernige:	17%
Lymphozyten:	10%

Leberbefunde:

Lebervergrößerung:	3 Querfinger
Gesamtbilirubin:	1,7 mg%
Direktes Bilirubin:	0,58 mg%
Mancke/Sommer:	30 mg%
Bromthalein-Test:	1,25%
SGOT:	76 W.E.
SGPT:	45 W.E.

FALL 2: Patient H.Erika, 59 Jahre

Einweisung:

23.4.1970, gestorben am 30.4.1970

Klinische Diagnose:

Leberzirrhose mit mehreren Oesophagusvarizen-
blutungen

Anatomische Diagnose:

Postnekrotische Leberzirrhose mit akutem dystro-
phischen Schub, Zustand nach porto-cavalem Shunt
vor einiger Zeit. Todesursache: Coma hepaticum

Alkohol:

Keine Alkoholanamnese

Knochenmarkdiagnose:

Megaloblastäre Knochenmarkumwandlung

Therapie bis zur Sternalpunktion am 27.4.1970:

Lanicor ^R	0,25 mg	4 Tage lang
Konaktion ^R	3 x 1 Amp	4 Tage lang
Bykomycin ^R	9,0 g	4 Tage lang
Nadisan ^R	2,0 g	3 Tage lang
Ornicetil ^R	20 g	3 Tage lang
Tromcardin ^R	6 Amp	3 Tage lang

Blutbild:

Erythrozyten:	2,84 Mill/mm ³
Hb.:	10,3 g%
HbE:	36,5 pg
Thrombozyten:	75 000/mm ³
Leukozyten:	4 900 /mm ³
Segmentkernige:	72%
Stabkernige:	8%
Metamyelozyten:	1%
Eosinophile:	2%
Lymphozyten:	15%
Monozyten:	2%

Leberbefunde:

Lebervergrößerung:	3 Querfinger
Gesamtbilirubin:	26,7 mg%
Direktes Bilirubin:	19,5 mg%
Mancke/Sommer:	30 mg%
SGOT:	850 W.E.
SGPT:	450 W.E.

FALL 3: Patient D. Anna, 69 Jahre

Einweisung:

25.7.1970

Diagnose:

Leberzirrhose mit Cholelithiasis

Alkohol:

Keine Alkoholanamnese

Knochenmarkdiagnose:

Die Erythropoese befindet sich in einer Regenerationsphase, wie bei Zustand nach massiver Blutung oder Eisensubstitution

Therapie bis zur Sternalpunktion am 28.7.1970:

Valium ^R	2 x 10 mg
Lanicor ^R	0,250 mg/die
Haemacel ^R	2 x 500 ml
Octapressin ^R	7 Amp
Reverin ^R	2 x 275 mg
Sterofundin ^R CH	2 x 250 ml/die
Konaktion ^R	3 x 1 Amp/die
Bykomycin ^R	2 x 6 g/die

Blutbild:

Erythrozyten:	1,44 Mill/mm ³
Hb.:	4,1 g%
HbE:	28,4 pg
Thrombozyten:	42 000/mm ³
Leukozyten:	6 900/mm ³
Segmentkernige:	70%
Stabkernige:	4%
Eosinophile:	4%
Monozyten:	5%
Lymphozyten:	17%

Leberbefunde:

Lebervergrößerung:	3 Querfinger
Gesamtbilirubin:	7,4 mg%
Direktes Bilirubin:	7,35 mg%
Mancke/Sommer:	80 mg%
SGOT:	63 W.E.
SGPT:	121 W.E.
Alk. Phosphatase:	24,0 mMol-E

FALL 4: Patient N.Evelin, 30 Jahre

Einweisung:

11.2.1970

Diagnose:

Alkoholdelirium, Blutungs-Anämie, alkoholinduzierte akute Hepatopathie

Alkohol:

Chronischer Alkoholismus

Knochenmarkdiagnose:

Angeregte Erythropoese mit einzelnen Megaloblasten und Megaloblastoiden. Die Proerythroblasten und Promyelozyten haben z.T. Vakuolen.

Therapie bis zur Sternalpunktion am 16.2.1970:

Konaktion ^R	6 x 1 Amp
Vit.B-Komplex	5 Amp
Vit.C	4,0 gr
Laevocholin ^R	20 ml
Distraneurin ^R	4 Tbl.
Haloperidol ^R	1 Amp
Bykomycin ^R	10,0 gr
Binotal ^R	9,0 gr
Lanicor ^R	3 mg
Ultracorten ^R	250 mg

Blutbild:

Erythrozyten:	2,59 Mill/mm ³
Hb.:	9,9 g%
HbE:	38,0 pg
Thrombozyten:	92 000/mm ³
Leukozyten:	6 300/mm ³
Segmentkernige:	34%
Stabkernige:	24%
Monozyten:	3%
Basophile:	1%
Lymphozyten:	38%

Leberbefunde:

Lebervergrößerung:	3 Querfinger
Bilirubin:	1,87 mg%
Mancke/Sommer:	100 mg%
Bromthalein:	0,36 mg%
SGOT:	630 W.E.
SGPT:	288 W.E.
Alk.Phosphatase:	3,31 mMol-E

FALL 5: Patient F.Heinz, 39 Jahre

Einweisung:

26.4.1968

Diagnose:

Chronischer Alkoholismus

Knochenmarkdiagnose:

Bis auf Sideroachresie normales Knochenmark. Die Proerythroblasten und Promyelozyten haben z.T. Vakuolen.

Therapie bis zur Sternalpunktion am 26.4.1968:

Keine

Blutbild:

Erythrozyten:	4,92 Mill/mm ³
Hb.:	16,3 g
HbE:	33,2 pg
Segmentkernige:	65%
Stabkernige:	3%
Eosinophile:	3%
Lymphozyten:	29%

Leberbefunde:

SGOT:	36 W.E.
SGPT:	14 W.E.

FALL 6: Patient Sch.Else, 52 Jahre

Einweisung:

22.7.1970

Anatomische und klinische Diagnose:

Chronischer Alkoholismus, Fettleber

Knochenmarkdiagnose:

Vakuolen in Proerythroblasten und angeregte Erythropoese mit Megalozyten und Eisenmangel sprechen für akuten Alkoholismus.

Therapie bis zur Sternalpunktion am 23.7.1970:

Digoxin	0,75 mg
Jodkali	3,0 g
Distraneurin ^R	6 Tbl.
Ampicillin ^R	12,0 g
Konakion ^R	1 Amp
Kalk'sche Infusion	
Vit _B -Kompl.	4 Amp
Ascorbinsäure	4 Amp
Pancortex ^R	5 ml
Cobalamin	200 pg
Laevocholin ^R	4,0 g

Blutbild:

Erythrozyten:	3,26 Mill/mm ³
Hb.:	11,3 g%
HbE:	34,6 pg
Thrombozyten:	33 000/mm ³
Gesamt Eiweiß:	4,36 g
Leukozyten:	3 800/mm ³
Segmentkernige:	54%
Stabkernige:	26%
Promyelozyten:	2%
Metamyelozyten:	2%
Monozyten:	6%
Lymphozyten:	10%

Leberbefunde:

Lebervergrößerung:	4 Querfinger
Gesamtbilirubin:	2,9 mg%
Direktes Bilirubin:	2,8 mg%
Mancke/Sommer:	60 mg%
SGOT:	265 W.E.
SGPT:	65 W.E.
Alk.Phosphatase:	2,14 mMol-E

FALL 7: Patient S.Thomas, 14 Jahre

Einweisung:

18.2.1970

Diagnose:

Alkoholintoxikation

Trinkmenge:

3/4 Liter wodka (40%) am letzten Tag

Epikrise:

Patient wurde im Alkoholrausch aufgenommen und reagierte nur auf Schmerzreize

Knochenmarkdiagnose:

Normales Knochenmark

Therapie bis zur Sternalpunktion:

Keine

Blutbild:

Erythrozyten:	4,34 Mill/mm ³
Hb.:	13,4 g%
HbE:	30,8 pg
Leukozyten:	6 600/mm ³
Segmentkernige:	63%
Stabkernige:	10%
Eosinophile:	5%
Basophile:	1%
Monozyten:	3%
Lymphozyten:	18%

Leberbefunde:

Gesamtbilirubin:	0,37 mg%
Mancke/Sommer:	90 mg%
SGOT:	18 W.E.
SGPT:	9 W.E.

FALL 8: Patient S.Otto, 90 Jahre

Einweisung:

26.7.1966

Diagnose:

Perniciöse Anämie, die durch ein typisches Megaloblastenmark; einen positiven Schillingtest und eine auffallende Retikulozytenkrise nach Vit.B₁₂-Gaben gesichert werden konnte.

Alkohol:

Keine Alkoholanamnese

Knochenmarkdiagnose:

Typisches Megaloblastenmark

Therapie bis zur Sternalpunktion am 29.7.1966:

Librax^R 2 Drg

Keine Vit.B₁₂-Gaben

Blutbild:

Erythrozyten: 1,8 Mill/mm³

Hb.: 7,2 g%

HbE: 39 pg

Leukozyten: 4 900/mm³

Segmentkernige: 74%

Lymphozyten: 26%

Leberbefunde:

Gesamtbilirubin: 3,09 mg%

Mancke/Sommer: 70 mg%

SGOT: 20 W.E.

SGPT: 11 W.E.

	Pat.	Kultur- stunden	PE	bE	pE	oE	rE
Normale Ery- thropoese		0	5	15	65	3	12
		24	1	11	52	8	28
19 Fälle		48	1	6	45	6	42
(BOLL)		72	0	5	56	3	36
Chronische	H.E.	0	11,2	29,3	28,4	1,1	30,0
		24	4,5	13,3	7,6	1,6	73,0
		48	0,5	2,1	7,5	0,0	89,9
		72	0,0	0,0	2,3	0,0	97,7
Leber- patienten	H.Er.	0	9,7	35,1	34,1	2,0	19,1
		24	6,1	11,8	9,1	0,0	73,0
		48	0,4	0,0	0,0	0,0	99,6
	D.A.	0	5,0	25,3	52,7	1,8	15,2
		24	3,9	17,1	30,9	0,0	48,1
		48	1,2	7,5	13,0	0,0	78,3
		72	1,7	3,5	9,1	0,0	85,7
Chronische Leber- patienten	Arithm.	0	8,6	29,9	38,4	1,6	21,5
	Mittel	24	4,8	14,4	15,9	0,5	64,4
		48	0,7	3,2	6,8	0,0	89,3
		72	0,9	1,8	5,7	0,0	91,6
Chronischer Alkoholiker ohne Leber- schaden	F.H.	0	17,8	35,7	41,5	3,0	2,0
		6	8,8	20,7	38,0	2,5	30,0
		20	10,8	14,0	21,5	5,2	48,5
		30	5,4	18,6	39,1	6,3	30,6
		48	3,3	3,9	11,9	1,4	79,5
		72	4,5	4,5	28,3	4,5	58,2
Chronische Alkoholiker mit Leber- schaden	Sch.E.	0	7,2	22,3	41,0	5,0	24,5
		24	3,0	11,6	29,2	3,8	52,4
		48	0,7	2,4	8,8	0,0	88,1
	N.E.	0	11,4	25,4	29,8	5,4	28,4
Akute Alko- holintoxi- kation	S.T.	0	4,9	19,5	41,5	6,7	27,4
		24	9,9	13,0	15,1	0,0	62,0
		48	0,0	2,5	0,0	0,0	97,5

Tab.1: Prozentuale Anteile der Reifungsklassen im Original und in vitro nach 1-3 Tagen in % für die Erythropoese. Zeichenerklärung siehe Seite 18.

	Pat.	Kultur- stunden	PE	bE	pE
Normale Ery- thropoese		0	0,0	0,0	0,0
		24	22,1	1,6	0,0
2 Fälle		48	(32,2)	0,0	0,0
(s.Seite 23)		72	(40,0)	0,0	0,0
Chronische	H.E.	0	0,0	0,0	0,0
		24	27,2	3,2	0,0
		48	0,0	0,0	0,0
		72	0,0	0,0	0,0
Leber- patienten	H.Er.	0	13,5	1,3	0,0
		24	23,0	2,1	0,0
		48	(50,0)	0,0	0,0
	D.A.	0	6,0	0,7	0,0
		24	29,4	2,4	0,0
		48	(80,0)	0,0	0,0
		72	(84,0)	8,8	3,3
Chronische Leber- patienten	Arithm.	0	6,5	0,7	0,0
	Mittel	24	26,5	2,6	0,0
		48	(43,3)	0,0	0,0
		72	(42,0)	4,4	1,6
Chronischer Alkoholiker ohne Leber- schaden	F.H.	0	46,0	4,1	0,0
		6	34,0	2,4	0,0
		20	62,0	6,9	0,0
		30	41,0	3,2	0,0
		48	28,6	0,0	0,0
		72	32,0	0,0	0,0
Chronische Alkoholiker mit Leber- schaden	Sch.E.	0	62,5	5,3	0,0
		24	87,5	6,7	0,0
		48	50,0	0,0	0,0
	N.E.	0	41,5	3,4	0,0
Akute Alko- holintoxi- kation	S.T.	0	0,0	0,0	0,0
		24	25,0	4,6	0,0
		48	0,0	0,0	0,0

Tab.2: Anteile der vakuolisierten Zellen in % für die Erythro-
poese im Original und nach 1-3 Tagen in vitro.
Zeichenerklärung siehe Seite 18. In Paranthese stehen
alle %-Zahlen aus weniger als 6 Zellen.

	Pat.	Kultur- stunden	Mb	P	M	eM	MM	St	S	ES
Normale Granulop.		0	4	14	21	2	18	19	20	2
		24	2	19	31	4	14	11	16	3
24 Fälle (BOLL)		48	2	20	29	4	13	11	18	3
		72	2	13	22	3	17	16	23	4
Chronische Leber- patien- ten	H.E.	0	1,0	17,6	13,5	4,5	15,7	23,3	21,5	1,9
		24	1,4	24,9	17,2	4,1	10,2	19,0	18,4	4,8
		48	0,6	13,8	26,6	4,4	12,6	11,0	21,6	9,4
		72	0,3	5,7	22,8	5,9	29,2	13,9	17,1	5,1
	H.Br.	0	1,0	22,6	19,9	3,6	9,0	18,3	21,6	3,8
Chronische Leber- patien- ten		24	1,5	44,6	21,9	2,7	1,7	6,3	19,7	2,6
		48	0,5	40,1	24,0	3,2	4,3	3,5	23,1	1,3
	L.A.	0	0,5	17,3	11,5	5,2	8,5	26,3	20,7	9,2
		24	0,4	24,3	9,6	5,1	4,9	16,0	30,3	3,9
		48	0,5	35,3	10,5	9,0	3,1	4,2	20,2	7,2
		72	0,7	20,4	31,5	10,4	12,6	5,9	13,7	4,8
Chronische Leber- patien- ten	Arithm.	0	0,6	10,2	15,3	4,4	11,0	22,6	21,6	3,3
	Mittel	24	1,1	31,4	16,2	3,8	5,5	13,8	22,8	5,4
		48	0,5	29,7	23,7	5,5	6,6	6,2	21,8	6,0
		72	0,5	13,1	27,1	5,1	20,9	10,0	15,4	4,9
Chronischer Alkoholi- scher Leber- schaden	F.H.	0	1,2	15,3	18,9	2,6	17,0	13,6	29,7	1,2
		0	1,6	31,4	45,8	3,2	2,5	3,8	10,0	1,7
		20	0,3	46,5	34,5	2,7	5,6	2,0	7,4	1,0
		30	1,2	37,5	44,3	1,2	5,2	1,2	8,3	1,1
		46	0,5	22,7	40,4	1,5	9,1	1,2	23,5	1,1
		72	0,3	13,8	59,1	2,2	16,0	1,8	5,9	0,9
dito mit Leber- schaden	Sch.E.	0	1,6	46,0	15,8	2,6	6,4	11,5	14,8	1,3
		24	0,8	31,2	18,7	0,7	6,1	13,4	26,4	0,7
		48	0,5	25,3	32,0	1,0	7,2	4,1	29,1	0,6
	N.E.	0	0,5	14,4	8,8	0,5	15,0	15,7	44,0	0,3
Akute Alkohol- intoxik.	S.F.	0	1,0	8,1	23,0	2,4	14,0	10,0	32,0	1,9
		24	0,9	28,3	30,0	5,9	13,4	1,1	9,3	1,7
		48	1,0	40,3	23,3	9,4	9,0	1,8	7,0	1,4

Tab. 3: Prozentuale Anteile der Reifungsklassen im Original und nach 1-3 Tagen in vitro für die Granulopoese in %. Zeichenerklärung siehe Seite 18.

	Pat.	Kultur- stunden	Mb	P	M	eM	MM	St	S	un
Normale Granulop.		0	0,0	1,9	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		24	15,4	7,2	0,9	0,0	0,0	0,6	2,7	0,0
2 Fälle (s.S.23)		48	12,5	5,5	1,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0
		72	0,0	4,5	0,0	0,0	2,0	1,4	2,3	0,0
	H.E.	0	0,0	2,2	3,1	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0
		24	14,3	15,0	5,0	5,0	1,9	0,0	3,0	3,7
		48	0,0	2,4	1,2	0,0	2,7	0,0	1,5	3,4
Chro-		72	0,0	7,3	0,0	4,7	2,4	2,1	4,2	2,6
nische										
Leber-	H.Br.	0	0,0	4,7	3,3	0,0	3,2	1,1	0,0	0,0
		24	3,3	12,4	3,2	7,1	0,0	0,0	3,5	0,0
		48	0,0	12,5	1,9	3,9	3,5	0,0	2,0	0,0
patien-										
ten	D.A.	0	0,0	2,9	0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	2,6
		24	50,0	8,2	4,0	10,0	0,0	0,0	1,1	15,4
		48	0,0	6,5	3,1	18,6	0,0	0,0	1,0	22,9
		72	50,0	18,2	1,2	39,0	3,2	8,1	7,9	30,2
Chroni-	Arithm.	0	0,0	3,3	2,3	1,7	1,5	0,4	0,0	0,9
sche	Mittel	24	24,2	11,9	4,7	7,7	0,6	0,0	2,5	6,7
Leber-		48	0,0	6,7	2,7	8,5	2,0	0,0	1,5	5,4
patien-		72	21,0	12,5	0,6	21,3	2,8	5,0	6,0	16,5
ten										
Chroni-	F.H.	0	6,7	2,8	1,1	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0
scher		6	11,1	4,8	4,0	2,7	0,0	0,0	1,0	0,0
Alkoho-		20	0,0	14,0	4,3	5,9	0,0	0,0	1,1	0,0
liker		30	28,6	9,2	0,3	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0
ohne Le-		48	16,7	6,8	1,3	4,6	2,2	0,0	0,6	0,0
bersch.		72	0,0	19,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
dito mit	Sch.E.	0	33,4	8,3	6,9	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0
Leber-		24	50,0	13,3	2,0	0,0	0,0	1,3	1,3	0,0
schaden		48	33,0	10,0	1,8	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0
	N.E.	0	33,0	10,0	5,5	0,0	1,1	1,0	0,0	0,0
Akute	S.T.	0	0,0	8,8	4,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Alkohol-		24	0,0	10,0	4,7	0,0	2,8	0,0	1,0	0,0
intoxik.		48	0,0	9,9	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0

Tab. 4: Anteil der vakuolisierten Zellen in % für die Granulopoese im Originalpräparat und nach 1-3 Tagen in vitro. Zeichenerklärung siehe Seite 18.

GRUPPE	Pat.	S t u n d e n						
		0	6	20	24	30	48	72
NORMAL n.BOLL		3,7			3,3		4,1	7,0
Chronische Leber- patienten	H.E.	1,5			2,1		3,2	7,5
	H.Er.	1,1			1,6		3,9	-
	J.A.	0,7			2,4		1,1	0,8
Chronische Leber- patienten	Arithm. Mittel	1,1			2,0		2,7	4,2
Chronischer Alkoholiker ohne Leber- schaden	L.H.	3,5	1,7	3,1	-	3,7	7,2	4,1
dito mit Leber- schaden	Sch.E.	1,7			2,2		2,4	-
	N.E.	2,0			-		-	-
Akute Al- kohol- intoxikation	S.T.	3,5			5,0		3,7	-

Tab. 5: G/E Indices der Originalausstriche und Kulturen
nach 1-3 Tagen

GRUPPE	Pat.	S t u n d e n					
		0	6	20	24	30	48 72
NORMAL 19 Fälle (BOLL)		14,7			6,8		4,6 2,2
Chroni- sche Leber- patienten	H.E.	42			79		42 0
	H.Er.	57			59		0 -
	D.A.	25			16		32 0
Chron. Leber- patienten	Arithm. Mittel	41			51		25 0
Chronischer Alkoholiker ohne Leber- schaden	F.H.	44	56	16		70	50 0
dito mit Leber- schaden	Sch.E.	31			64		0 -
	N.E.	42			-		- -
Akute Al- kohol- intoxi- kation	S.T.	17			81		0 -

Tab. 6: Gesamte rote Mitoseindices im Originalausstrich und 1-3 Tagen in vitro, in %.

GRUPPE	Pat.	0	6	Stunden 20	24	30	48	72
NORMAL 24 Fälle (BOLL)		19			19		14	7
Chroni- sche Leber- patienten	H.E.	38			26		40	14
	H.Br.	37			29		21	-
	D.A.	6			30		9	0
Chron. Leber- patienten	Arithm. Mittel	27			28		26	7
Chronischer Alkoholiker ohne Leber- schaden	F.H.	10	13	18		15	13	27
dito mit Leber- schaden	Sch.E.	20			46		32	
	N.E.	19			-		-	-
Akute Al- kohol- intoxikation	S.T.	11			23		27	-

Tab. 7: Gesamte weiße Mitoseindices im Originalausstrich und nach 1-3 Tagen in vitro, in %.

Erläuterungen zu den nachfolgenden Diagrammen:

Abszisse: Kulturdauer in Stunden

Ordinate: Reifungsstufen der Erythropoese und Granulopoese, jeweils in additiver Form aufgetragen.

Außerdem ist neben den Kurven der rote Mitose-Index (rMI) und der weiße Mitose-Index (wMI), sowie das Zahlenverhältnis aller Zellen aus der Granulopoese zur Erythropoese (G/E) aufgetragen.

Die in den Diagrammen verwendeten Abkürzungen sind auf Seite 18 erläutert.

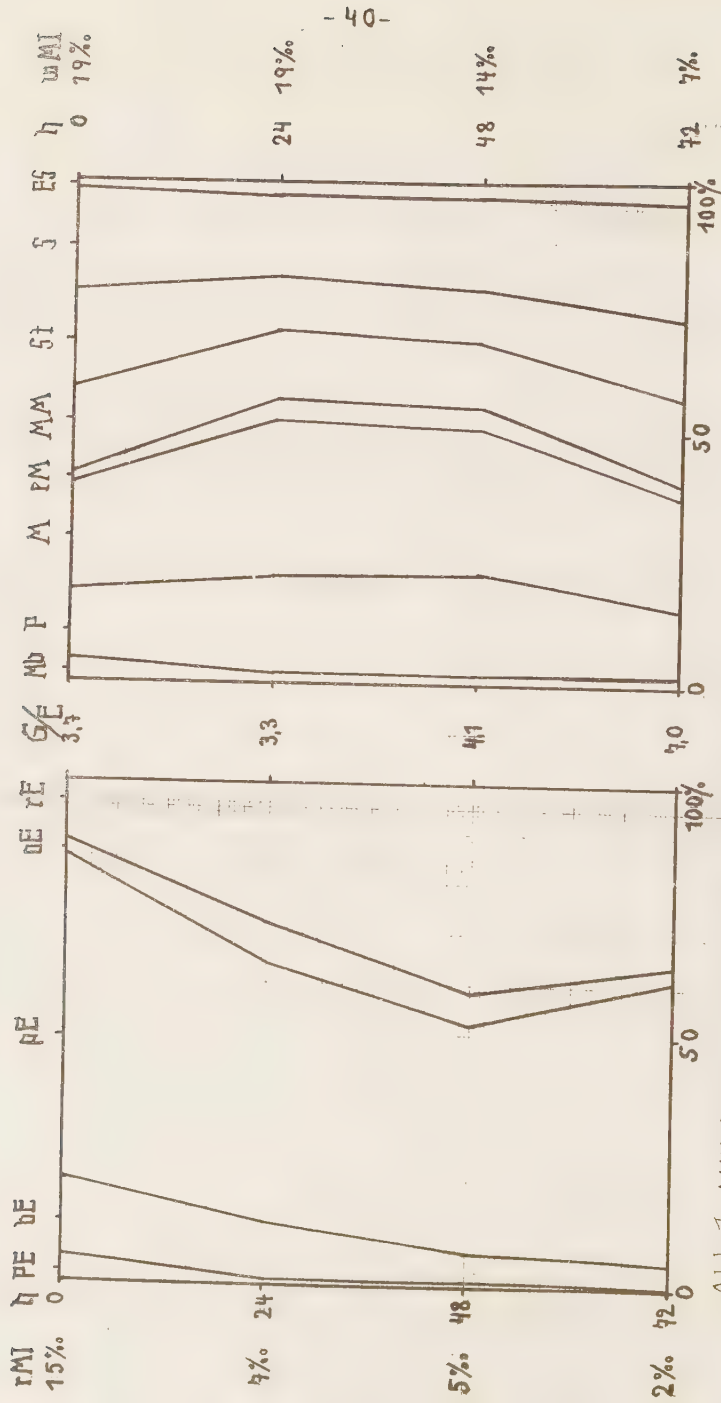


Abb. 1: Mittelwerte von Normalpersonen in der Erythropoese (19 Personen) und in der Granulopoese (24 Personen) nach Boll (10, 11).

Pal.H.E

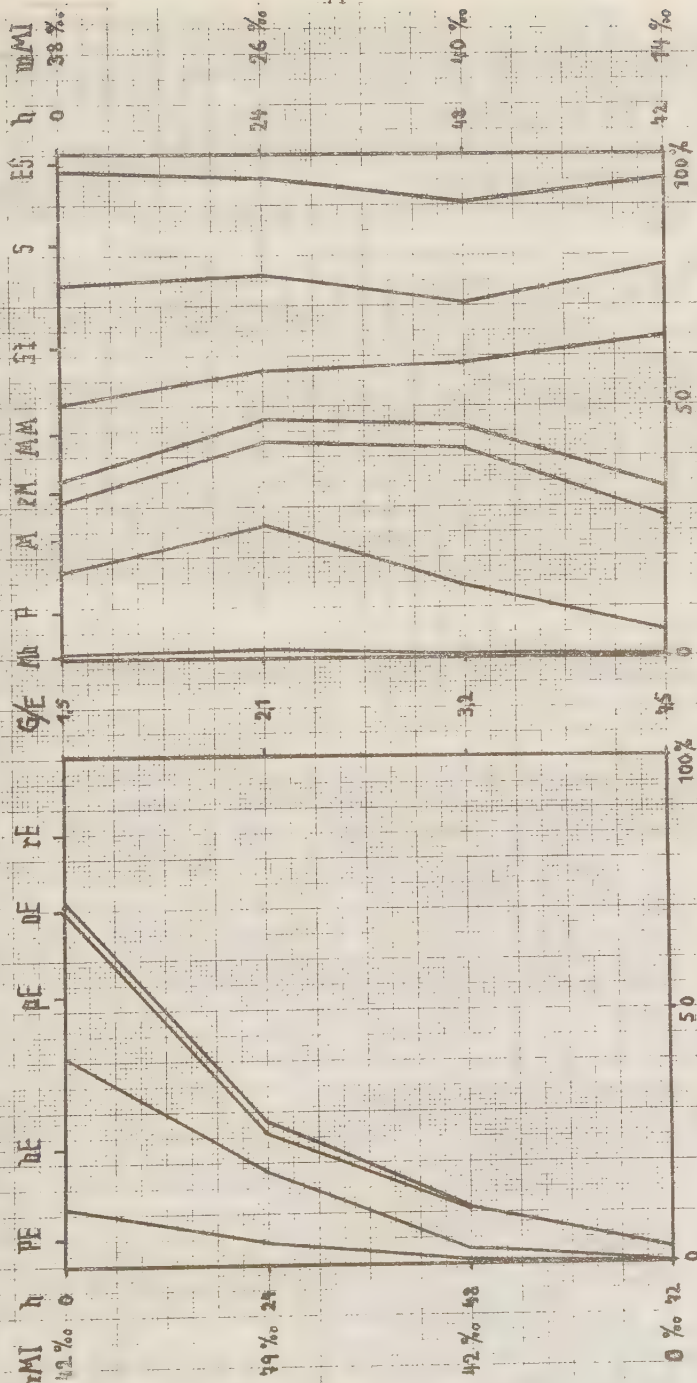


Abb. 2: Reifungskurven der Granulopoese und Erythropoese während der ersten 72 Kulturstunden in Prozent zeitgerecht aufgetragen bei Leberzirrhose.

Pol.H.Ex.

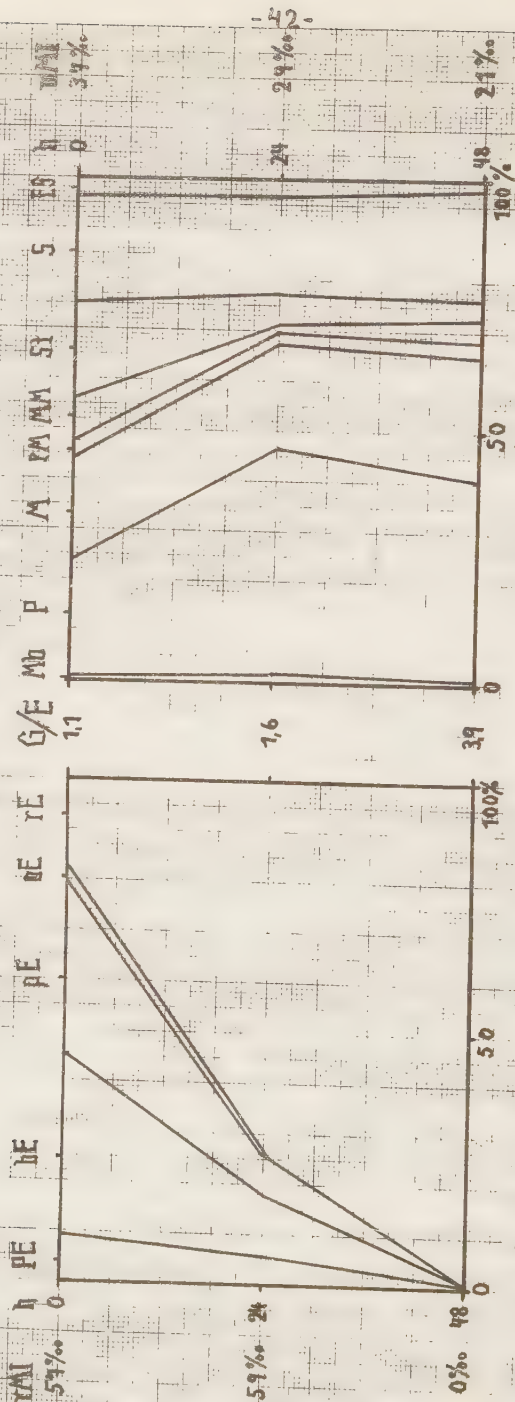


Abb.3: Reifungskurven der Granulopoese und Erythropoese während der ersten 48 Kulturstunden in Prozent zeitgerecht aufgetragen bei Leberzirrhose.

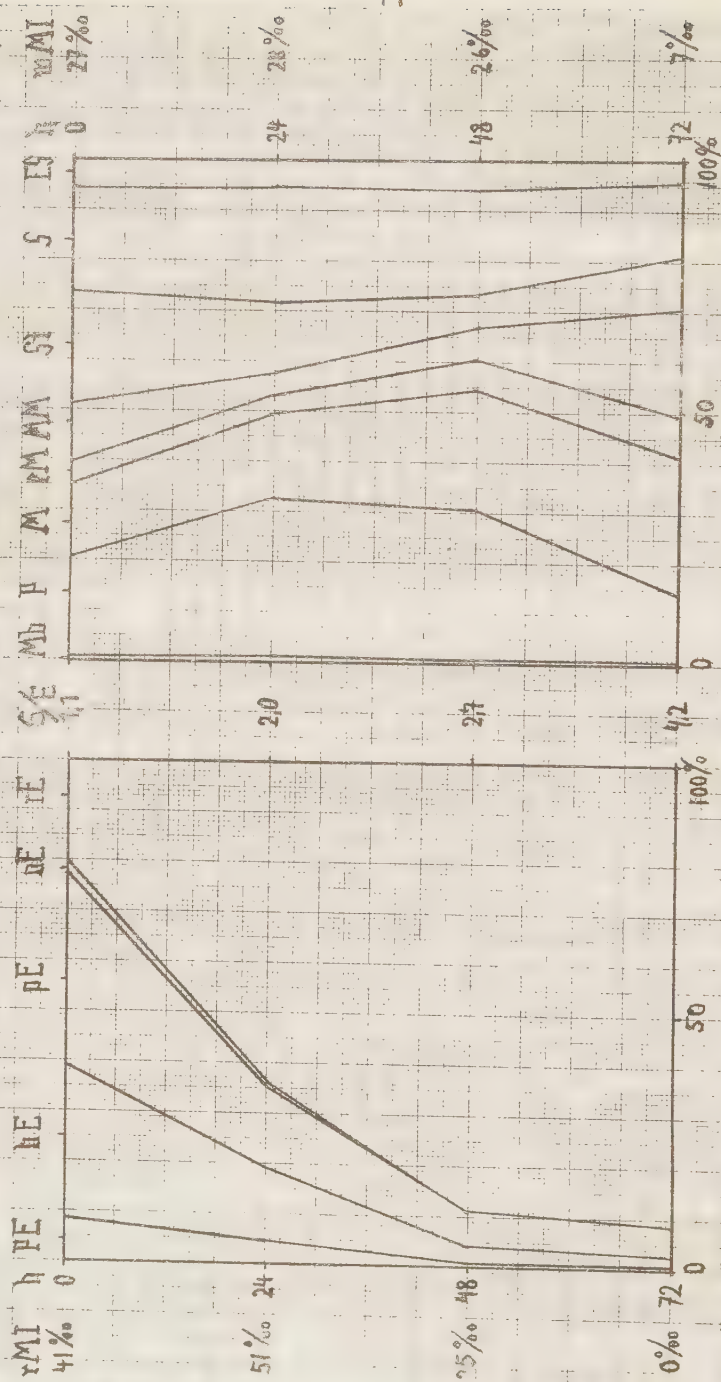


Abb. 5: Mittelwerte von 3 Patienten mit Leberzirrhose ohne Alkoholabus.

Pol.E.H.



Abb. 6: Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese während der ersten 72 Kulturstunden in Prozent zeitgerecht aufgetragen bei Alkoholismus ohne Leberschaden.

Phl. 9h.E.

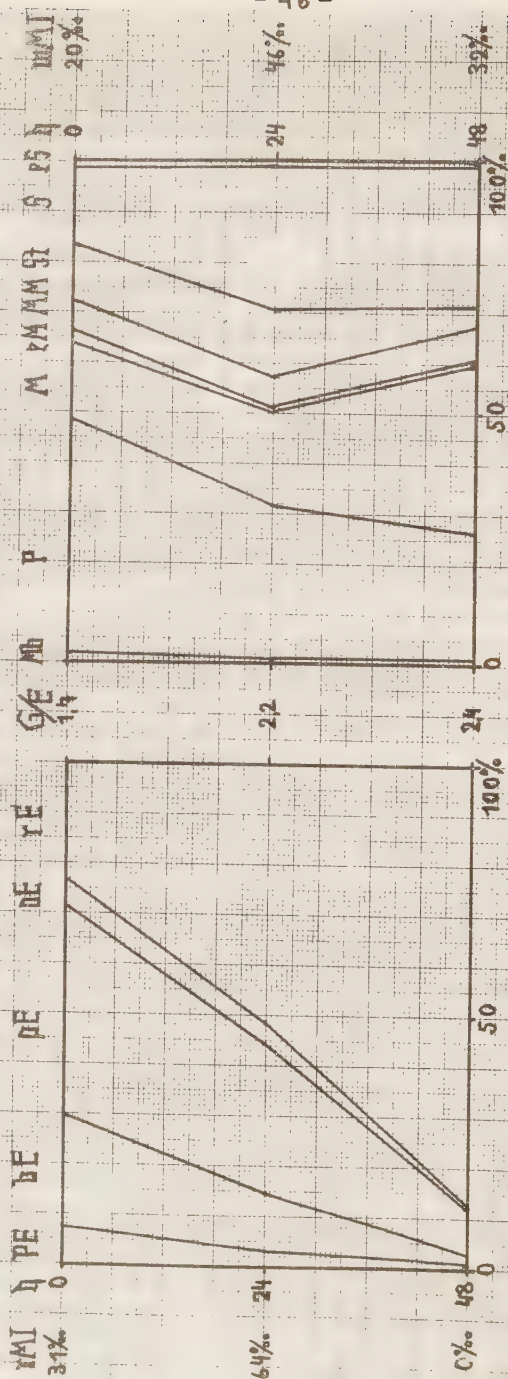


Abb. 7. Reifungskurven der Erythropoese und Granulopoese während der ersten 48 Kulturstunden in Prozent zeitgerecht aufgetragen bei Alkoholismus mit Leberschaden.

Pat. S.T.

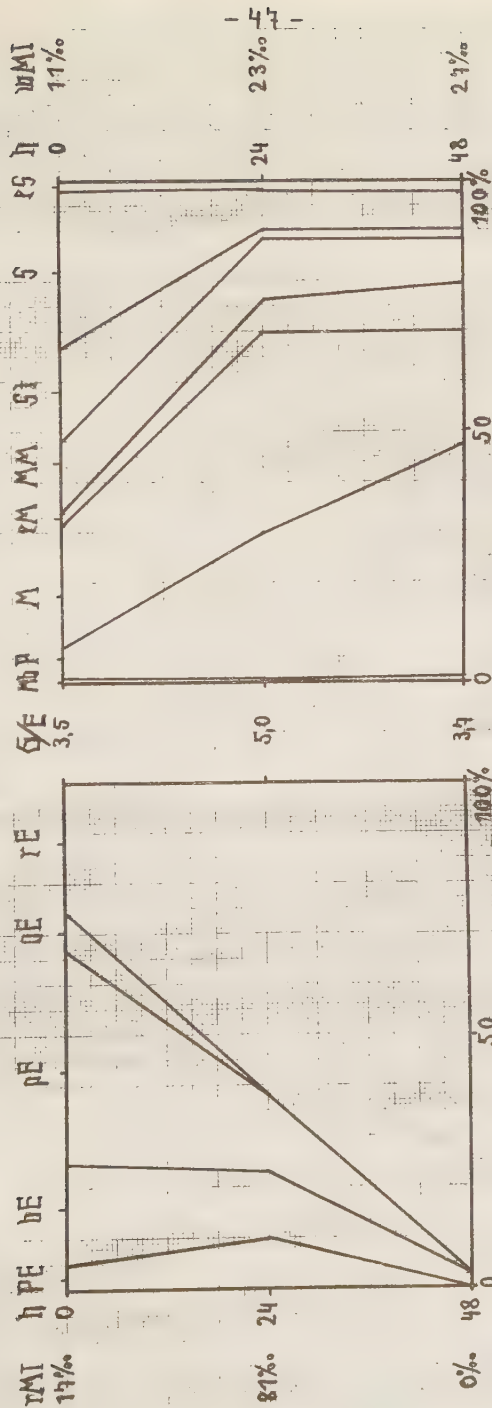


Abb. 8: Reifungskurven der Erythrozyten- und Granulozyten während der ersten 48 Stunden in Prozent zeitgerecht aufgetragen bei akuter Alkoholintoxikation ohne Leberschaden.

%
60

50

40

30

20

10

0

P

PM

SM

A

T

R

%
60

Abb 9: Karyologische Kurven der Erythroblasten-Mitosen im Originalpräparat und zu allen Kulturzeiten zusammen dargestellt.

Zeichenerklärung: siehe Abb 11 u. Seite 18

Gesamitmitosenzahl der einzelnen Fälle
stehen jeweils in Klammer

(123)

(33)

(275 n. Boll)

(61)

Abb 10: Karyologische Kurven der Granuloblasten-Mitosen.

50

40

30

20

10

0

P

PM

SM

n

T

R

(718 n. BOLL.)

(170)

(83)

(59)

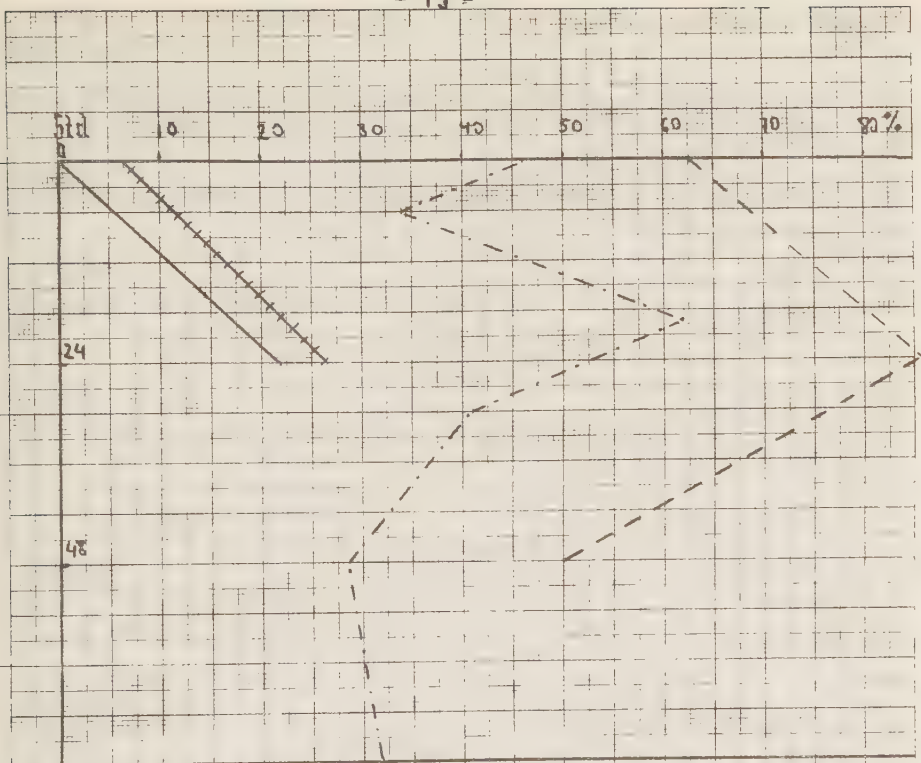


Abb. 11: Vakuolisierung der Proerythroblasten während der ersten 72 Kulturstunden in Prozent zeitgerecht aufgetragen. Die in Tabelle 2 in Paranthese stehenden Werte blieben unberücksichtigt.

Zeichenerklärung: Normalpersonen (2 Fälle): —

— Leberpatienten (3 Fälle): + + + + + + + + + +

— Alkoholiker ohne Leberschaden (Pat.: E.H.): - - - - -

— Alkoholiker mit Leberschaden (Pat.: Sch. E.): - . - . - . - . - . - . - . - . - .

12
0 3 6
24 48 72

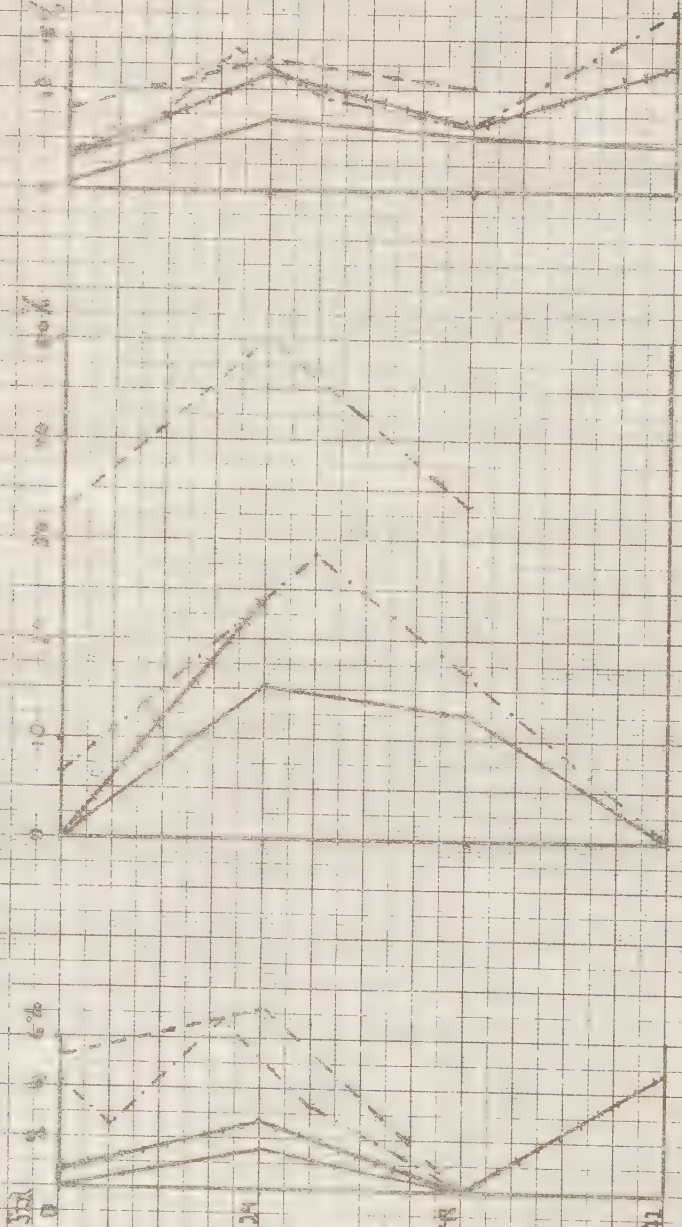
Abb. 12. Vakubisation der
besonstigen Ery-
throblasten

0 10 20 30 40 50 %
0 24 48 72

Abb. 13. Vakubisation der Myeloblasten
im Originalpräparat und his
72 Stunden Kulturdauer

0 10 20 30 40 50 %
0 24 48 72

Abb. 14. Vakubisation
der Promyelo-
cyten



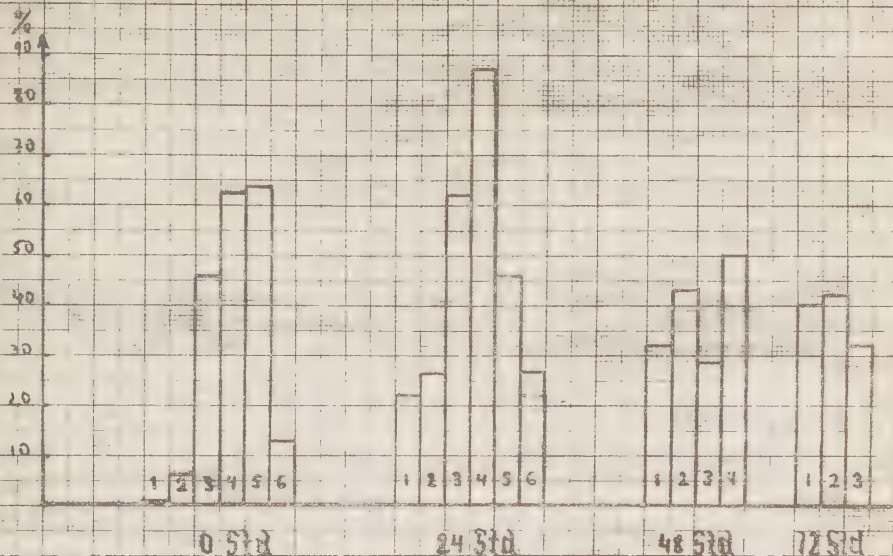


Abb. 15: Vergleichende Darstellung der vakuolierten Proerythroblasten an der Gesamtproerythroblastenzahl in Prozent während der ersten 72 Stunden bei folgenden Patientengruppen: Normalfall (1), Leberpatienten (2), ein Alkoholiker ohne Leberschaden (3), ein Alkoholiker mit Leberschaden (4), ein Patient mit einem Hb-gehalt von 7 g (5), ein Perniciosafall (6).

ZAHLE DER FÄLLE zu Abb. 15

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5	Gruppe 6
0 Std.	2	3	1	1	1	4
24 Std.	2	3	1	1	1	1
48 Std.	2	3	1	1	-	-
72 Std.	2	3	1	-	-	-

8711510 g%

12.0 Hb g%

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

10

20

30

40

50

60

70

80

2%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

SIGNIFIKANZBERECHNUNG: Siehe Tabelle 8

Nach dem optischen Vergleich der Reifungskurven der differenzierten Zellformen erscheint das Abweichen der Versuchsergebnisse von chronischen Alkoholikern und chronischen Leberpatienten ohne Alkoholabusus gegenüber Normalpersonen gut gesichert (S.44-47).

Zur Bestätigung wurde für die Erythropoese und Granulopoese eines Alkoholikers ohne erkennbaren Leberschaden (F.H.) und einer chronischen Leberpatientin ohne Alkoholabusus (D.A.) eine Signifikanzberechnung nach dem χ^2 -Verfahren von H. PEARSON durchgeführt.

Dabei wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

ERYTHROPOESE	Stunden	χ^2_4	p
	0	87,74	< 0,0027
Pat.: F.H.	20	100,00	< 0,0027
Alkoholiker	48	86,08	< 0,0027
o. Leberschaden	72	27,69	< 0,0027
	0	17,67	< 0,0027
Pat.: D.A.	24	91,26	< 0,0027
Leber-	48	205,38	< 0,0027
zirrhotikerin	72	120,97	< 0,0027
GRANULOPOESE	Stunden	χ^2_7	p
	0	43,10	< 0,0027
Pat.: F.H.	20	339,18	< 0,0027
Alkoholiker	48	176,84	< 0,0027
o. Leberschaden	72	280,20	< 0,0027
	0	122,71	< 0,0027
Pat.: D.A.	24	237,39	< 0,0027
Leber-	48	163,65	< 0,0027
zirrhotikerin	72	92,39	< 0,0027

Wenn $p < 0,0027$: Die Differenz zwischen beiden Meßreihen ist statistisch gut gesichert.

Ein Beispiel der Signifikanzberechnung ist auf Seite 55 für die Erythropoese wiedergegeben.

Es bedeuten: A = Zellzahl von Normalpersonen

B = Zellzahl im Präparat eines Alkoholikers

$$E_A = \frac{n_1}{n_3} \cdot (A+B) : \text{Erwartungswert von A}$$

$$E_B = \frac{n_2}{n_3} \cdot (A+B) : \text{Erwartungswert von B}$$

$$n_1 = \sum_{i=1}^5 \cdot A_i ;$$

$$n_2 = \sum_{i=1}^5 \cdot B_i ;$$

$$n_3 = \sum_{i=1}^5 \cdot (A_i + B_i) ;$$

$$\chi^2_4 = \sum_{i=1}^5 \frac{(A_i - E_{A_i})^2}{E_{A_i}} + \sum_{i=1}^5 \frac{(B_i - E_{B_i})^2}{E_{B_i}}$$

Die p-Werte wurden den χ^2 -Tafeln von BELITZ (2) entnommen.

Tabelle 8 (Signifikanzberechnung)

t = 0 Stunden

	PE	bE	pE	oE	rE	Summe
A	11	37	156	8	30	242
A in %	4,55	15,29	64,46	3,31	12,39	100%
B	73	146	170	12	8	409
B in %	17,85	35,70	41,56	2,93	1,96	100%
A + B	84	183	326	20	38	651
A + B in %	0,1290	0,2811	0,5008	0,0307	0,0584	1,0000
E _A	31,22	68,03	121,19	7,43	14,13	242
E _B	52,76	114,97	204,83	12,56	23,88	409
$\frac{(A-E_A)^2}{E_A}$	13,10	14,15	10,00	0,04	17,82	55,11
$\frac{(B-E_B)^2}{E_B}$	7,76	8,37	5,92	0,02	10,56	32,63

$$\chi^2_4 = 87,74 \rightarrow p < 0,0027 \rightarrow \text{Die Differenz zwischen beiden MeBreihen ist statistisch gut gesichert.}$$

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

A Proliferation der Knochenmarkszellen

1. Erythropoese von chronischen L e b e r p a t i e n t e n

In v i v o wird bei allen Leberpatienten ein stark erniedrigter G/E Index gefunden (Tabelle 5). Dies spricht für eine starke Anregung der Erythropoese. Außerdem kommt es zur Vermehrung der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten, so daß der Anteil der polychromatischen Erythroblasten bei $\frac{2}{3}$ der Fälle auf ca 50% sinkt (Tabelle 1). Man kann somit von einer deutlichen Linksverschiebung sprechen.

Der M i t o s e i n d e x steigt im Mittel auf fast das Dreifache an. Auffällig ist die Vermehrung der Telo- und Rekonstruktionsphase in der karyologischen Kurve (Abb. 9), so daß eine Verzögerung des Mitoseablaufes zu diskutieren ist.

In v i t r o wird die angeregte Erythropoese noch deutlicher, da selbst der Anteil der polychromatischen Erythroblasten stark zugunsten der reifen Erythroblasten abnimmt (Tabelle 1, Abb. 1 und 5). Als Zeichen der beschleunigten Ausreifung steigt der G/E Index weit über den Ausgangswert (Tabelle 5). Bei dem Patienten H.Er. ist der Prozentsatz der reifen Erythroblasten nach 72 Stunden so hoch, daß das Knochenmarkzellbild von ihnen beherrscht wird.

Während der M i t o s e i n d e x der normalen Erythropoese (Tabelle 6) mit zunehmender Kulturdauer eine rückläufige Tendenz zeigt, ist er bei Leberpatienten bis zur 48. Stunde ausgesprochen stark erhöht, zum Teil hervorgerufen durch die Mitoseverzögerung (Abb. 9), und sinkt erst nach 72 Stunden auf Null. Bei dem bereits erwähnten Fall H.Er., bei dem die Ausreifung besonders stark war, erreicht er wegen der Verminderung der teilungsfähigen Zellen bereits nach 48 Stunden die Nullgrenze.

2. Granulopoese von chronischen L e b e r p a t i e n t e n

In v i v o spricht der extrem niedrige G/E Index für eine relative Unterdrückung der Granulopoese (Tabelle 5). Der mehr oder weniger leicht erhöhte relative Gehalt an Promyelozyten (Tabelle 3) weist auf eine geringfügige Linksverschiebung hin. Die Myelozyten und Metamyelozyten sind relativ vermindert, so daß die nicht mehr teilungsfähigen Formen wieder normal bis vermehrt vorkommen. Die eosinophile Reihe ist deutlich vermehrt.

Die M i t o s e i n d i c e s (Tabelle 7) sind in vivo bei 2 von 3 der Fälle auf fast das Doppelte erhöht.

In v i t r o ist die Reifung dadurch gekennzeichnet (Abb. 1 und 5), daß der bis zur 48. Stunde festgestellten Verschiebung der Zellen zu den Granuloblasten (Promyelozyten und Myelozyten) eine deutliche relative Abnahme der Metamyelozyten und Stabkernigen (59) folgt, während der Gehalt der Segmentkernigen unverändert bleibt. Während wir es somit bis zum 2. Kulturtag mit einer Reifungsverzögerung zu tun haben, erfolgt nach der 48. Stunde eine starke Abnahme der Promyelozyten um etwa 50% im Mittel, gefolgt von einer relativen Vermehrung der Myelozyten, eosinophilen Myelozyten, Metamyelozyten und Stabkernigen. Die gleichzeitige Abnahme der Segmentkernigen könnte ihre Begründung darin finden, daß Segmentkernige entsprechend ihrer kurzen Lebensdauer leicht degenerieren (11).

Die M i t o s e i n d i c e s zeigen wie in vivo eine Erhöhung, die erst am 3. Kulturtag unter den Index der Normalfälle fällt.

3. Erythropoese von Alkoholikern

In *v i v o* liegt bei dem Alkoholiker ohne Leberschaden der G/E Index im Bereich der Norm (Tabelle 5). Dies spricht für eine normale Erythropoese. Ein zusätzlicher Leberschaden scheint jedoch wie bei Leberpatienten ohne Alkoholabusus primär für eine angeregte Erythropoese bei gleichzeitiger starker Tendenz zur Ausreifung zu sprechen und somit den G/E Index stark zu erniedrigen (Tabelle 5).

Während bei dem 14-jährigen Patienten S.T. mit einmaliger Alkoholvergiftung die Erythropoese noch nicht verschoben ist, zeigt der Patient F.H. eine deutliche Linksverschiebung, vor allem auf Kosten der reifen Erythroblasten.

Der *M i t o s e i n d e x* ist bei chronischen Alkoholikern um fast das Dreifache erhöht, was für eine starke Regeneration bei chronischem Alkoholabusus spricht.

In *v i t r o* wird bereits nach 6 Stunden Bebrütungszeit die Erythropoese bei F.H., der keinen sichtbaren Leberschaden aufweist, deutlich stimuliert. Als Bestätigung der angeregten Proliferation finden wir einen stark erniedrigten G/E Index (Tabelle 5) bei gleichzeitiger Vermehrung der reifen Erythroblasten (Tabelle 1) und Anstieg des Mitoseindex (Tabelle 6). Gegenüber der 6. Stunde scheint die Erythropoese nach 20 Stunden relativ vermindert (Tabelle 5), ebenso läßt der relativ verminderte Mitoseindex (Tabelle 6) eine gewisse Teilungsruhe erkennen. Die Beibehaltung der Linksverschiebung dürfte ihre Begründung in der verstärkten Mitosehäufigkeit am 6. Tag finden. Während wir somit nach 20 Stunden eine relativ gebremste Proliferation vorfinden, tritt bis zum 30. Tag gewissermaßen wieder eine Normalisierung dieser Parameter ein (Tabellen 2, 5 und 6). Bei dem Patienten Sch.E. mit zusätzlichem Leberschaden und

auch bei dem 14-Jährigen erfolgt nach 24 Stunden eine deutliche Änderung der Erythropoese, da selbst der Anteil der polychromatischen Erythroblasten stark zugunsten der reifen Erythroblasten abnimmt (Tabelle 1) bei gleichzeitigem sprunghaften Anstieg der Mitosehäufigkeit (Tabelle 6). Als Zeichen der beschleunigten Ausreifung geht der G/E Index, speziell bei S.T. weit über den Ausgangswert (Tabelle 5). Nach 48 Stunden haben wir eine noch sichtbarere Rechtsverschiebung bei allen Alkoholikern. Während jedoch bei F.H. ohne Leberschaden die gesamte Proliferation (Mitoseindex, G/E Index, Reifung) stimuliert ist, kommt es bei den übrigen Patienten speziell zum Sistieren der Regeneration. Nach 72 Stunden beherrschen die reifen Erythroblasten das Knochenmarkzellbild. Die Ausreifung wird allerdings bei F.H., der keinen Leberschaden hatte, ab der 72. Stunde zugunsten der polychromatischen Erythroblasten gebremst.

4. Granulopoese von A l k o h o l i k e r n

In v i v o haben, mit Ausnahme von Sch.E., die einen zusätzlichen Leberschaden besitzt und bei der somit entsprechend den chronischen Leberpatienten eine deutliche Linksverschiebung bei intensiver Rückbildung der Granulopoese vorliegt (Tabellen 3 und 5), F.H. und S.T. eine normale nicht verschobene Granulopoese. Eine erhöhte Regeneration ist nicht zu erkennen (Tabelle 6).

In v i t r o wird allerdings bei allen Patienten eine auffallende starke Linksverschiebung bis zur 72. Stunde deutlich. Diese tritt bei F.H. bereits nach 6 Stunden mit gleichzeitiger Reifungsverzögerung ein. Nach 20 Stunden verdreifacht sich bei diesem Patienten die Zahl der Promyelozyten gegenüber in vivo und erreicht erst

nach 72 Stunden in etwa den Ausgangswert. Erst nach 48 Stunden ist eine relativ leicht verbesserte Ausreifung zu erkennen. Nach 72 Stunden wird die Differentialverteilung von Myelozyten und Metamyelozyten beherrscht.

Während die Mitosenhäufigkeit nach 48 Stunden in etwa den Ausgangswert erreicht hat, ist diese nach 72 Stunden verdreifacht. Dies spricht für eine stimulierte Regeneration am 3. Tag.

Bei dem Patienten Sch.E. mit zusätzlichem Leberschaden läßt der erniedrigte G/E Index (Tabelle 5) -wie er auch bei den "reinen" Leberpatienten gefunden wurde- auf eine intensive Rückbildung der Granulopoese schließen.

Die Reifung ist dadurch gekennzeichnet, daß bis zur 48. Stunde eine Verschiebung der Zellen zu den Granuloblasten (Promyelozyten, Myelozyten) erfolgt, d.h. sie ist gehemmt.

Die Mitoseindizes sind in vitro um das Doppelte gegenüber der Norm erhöht.

Bei dem 14-Jährigen tritt ab 24 Stunden im Vergleich zu in vivo-Bedingungen eine ausgeprägte Linksverschiebung während der gesamten Bebrütungszeit auf (Abb. 8). Während die Myelozyten nach 48 Stunden in etwa ihren Ausgangswert erreichen, haben sich die Promyelozyten nach 2 Tagen fast verachtfacht. Obgleich die Granulopoese stark vermehrt ist (G/E Index = 5,0), tritt nach 24 Stunden eine Reifungshemmung auf, die bis zum 2. Tag anhält.

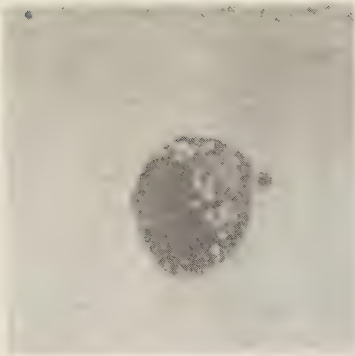


Abb. 17: Promyelozyt eines
Alkoholikers nach
24 Stunden in
vitro

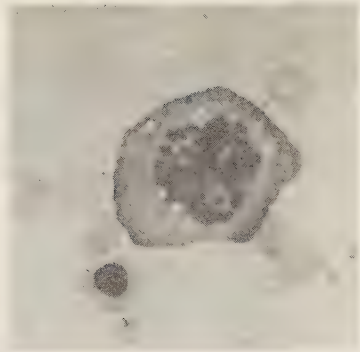


Abb. 18: Proerythroblast
in Metaphase bei
akuter Alkoholintoxikation nach
24 Stunden in vitro

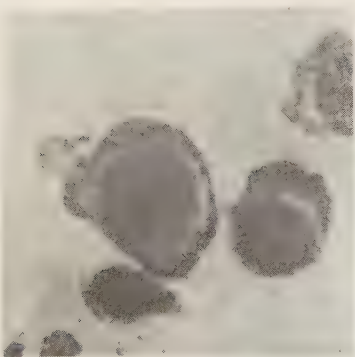


Abb. 19: Proerythroblast
bei Leberzirrhose
ohne Alkoholabusus im Original-
präparat

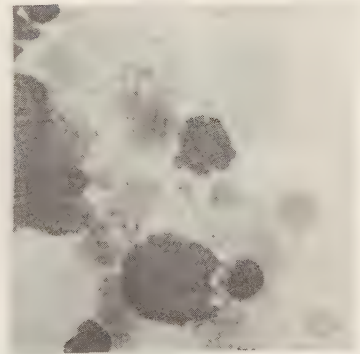


Abb. 20: Proerythroblast
bei Leberzirrhose
ohne Alkoholabusus nach 72 Stunden in vitro

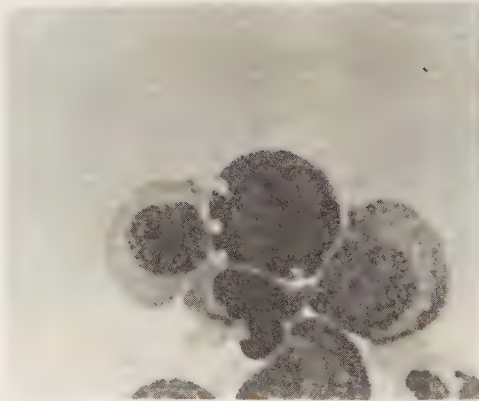


Abb. 21: Vakuolisierter Proerythroblast bei perniziöser Anämie im Originalpräparat

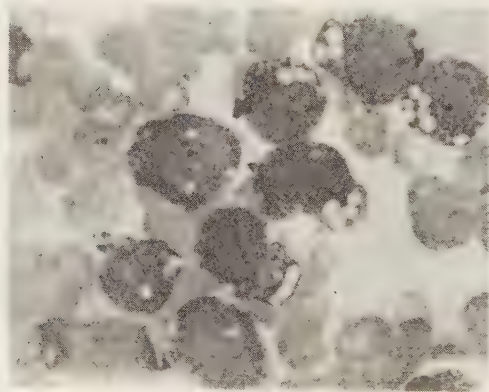


Abb. 22: Vakuolisierte Myeloblasten bei Leukämie im Originalpräparat

B ZELLMORPHOLOGIE der Knochenmarkausstriche

1. Allgemeine pathologische Veränderungen

Als Ausdruck degenerativer Erscheinungen oder Schädigungen durch Fixierung zeigten sich gelegentlich Atypien der Kernformen, Zweikernigkeit, Vorkommen von Kernabsprengungen und verwaschener Kernstrukturen. An den Kernteilungsfiguren konnten Abweichungen in Form von verklumpten Chromosomen, speziell in der Metaphase festgestellt werden.

In den reiferen Zellen der Erythropoese wurden - wahrscheinlich als Folge der Pyknose und Rhexis - Kernveränderungen, die Ähnlichkeit mit Gänseblümchen besaßen, besonders bei Leberpatienten beobachtet. In länger bebrüteten Kulturen traten diese Veränderungen häufiger auf als im Originalausstrich.

Im Zytoplasma fand man neben Vergrößerung der Granulation teilweise toxische Granulation.

Die Größe der einzelnen Zellen schien mitunter nach längerer Bebrütungszeit abzunehmen.

2. Spezielle pathologische Veränderungen

Vakuolen wurden nicht nur im Zytoplasma, wie PRIBILLA (49) berichtet, festgestellt, sondern in Übereinstimmung mit SULLIVAN (57) auch im Kern (Abb. 17), und zwar in unterschiedlicher Anzahl in vitro und in vivo. Dabei ist zu erwähnen, daß die Vakuolen wie gestanzt aussahen und gewöhnlich farblos waren. Gelegentlich konnte man neben diesen Vakuolen kreisrunde, rötlich transparente Veränderungen im Kern bzw. gräulich transparente im Plasma feststellen und bekam den optischen Eindruck,

als ob die Zellen an diesen Stellen nur leicht angestanzelt wären, d.h., daß die Zellen von der Oberfläche her durchfressen würden und als Endprodukt dieses Vorganges die Vakuole entstehen würde. Gelegentlich schien es, die Vakuole würde von der Zelle "ausgestoßen" werden. Dies wurde auch von BOLL während der Beobachtungen mit dem Phasenkontrastmikroskop beschrieben (12).

Bemerkenswert ist weiterhin die Feststellung, daß vakuolenhaltige Zellen zur Zellteilung fähig sind (Abb. 18).

Bei den A l k o h o l i k e r n stieg die Zahl der Vakuolen in den einzelnen Zellen während der Bebrütungszeit deutlich an. Während bei diesen Patienten im Originalpräparat nur wenige Erythroblasten mit mehr als 7 Vakuolen pro Zelltyp zu finden waren, waren bereits nach 24 Stunden Bebrütungszeit bis zu 23 Vakuolen in den Proerythroblasten zu zählen. Die weißen Vorstufen waren zwar nicht so stark wie die rote Reihe vakuolisiert, die Anzahl der einzelnen Vakuolen stieg nach 24 Stunden Bebrütungszeit immerhin bis auf 16 pro Zelle an (Abb. 17). Im Originalpräparat lag die Zahl zum weitaus größten Teil unter 7.

Bei dem 14-jährigen Patienten mit Alkoholexcess fanden sich in der Erythropoese im Originalpräparat keine Vakuolen. Die Granulopoese war jedoch mit 1 - 3 Vakuolen pro Zelle vakuolisiert. Nach 24 Stunden vergrößerte sich die Zahl der Vakuolen im Kern und Plasma rapide und erreichte jetzt auch in den Proerythroblasten die Zahl 6 pro Zelle (Abb. 18), in der weißen Reihe die Zahl 7 pro Zelltyp.

Bei Leberinsuffizienten Patienten war in 2 Fällen eine teilweise Vakuolisierung der Direkt-Ausstriche sowohl in der roten als auch in der weißen Reihe vorhanden. Die Vakuolen kamen sowohl im Zytoplasma als auch im Nucleus vor. Diese waren jedoch im Null-Stunden-Prä-

parat wesentlich kleiner als die Vakuolen der Alkoholiker (Abb. 19), erreichten allerdings nach längerer Kulturzeit ebenfalls die Größe der Alkoholikervakuolen (Abb. 20). Zum anderen gab es bis zu 24 Stunden nur wenige Zellen, die mehr als 3 Vakuolen besaßen. Ab 48 Stunden verschoben sich die Relationen, und es waren bis zu 10 Vakuolen in den einzelnen Zellen zu finden.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Zahl der Vakuolen in den einzelnen Knochenmarkszellen mit längerer Bebrütungszeit sowohl bei Alkoholikern als auch bei Leberpatienten stieg (Abb. 17 - 20), zum anderen, daß gerade bei den Leberpatienten die einzelnen Vakuolen mit längerer Bebrütungsdauer an Größe zunahmen. Nach 72 Stunden war die Vakuolisierung mitunter so stark, daß man geradezu von einer wabenartigen Zytoplasmastruktur sprechen konnte. Bemerkenswert ist weiterhin die Tatsache, daß bei dem 14-jährigen Alkoholiker die Vakuolisierung der Proerythroblasten erst nach 24 Stunden Kulturdauer (Abb. 18) eintrat, wie auch bei den Normalpersonen.

3. Prozentualer Anteil der Vakuolen während der Reifung

In den Abbildungen 11 bis 14 wurde das prozentuale Vorkommen der Vakuolen von Leberpatienten und Alkoholikern im Vergleich zu Normalpersonen zeichnerisch als Funktion der Zeit aufgetragen.

In der Abb. 15 wurde außerdem ein Perniciosafall und ein Patient mit einem Hb von 5 g% zusätzlich zeichnerisch aufgetragen.

In der E r y t h r o p o e s e konnten im Originalpräparat im Unterschied zu PRIBILLA, der in den Proerythroblasten eine 3,4-prozentige Vakuolisierung als nor-

mal betrachtete, keine Vakuolen bei den hämatologisch unauffälligen Personen gefunden werden. Allerdings hatte PRIBILLA ein größeres Kollektiv, nämlich 10 hämatologisch unauffällige Patienten untersucht (49).

Bei einem unserer Leberpatienten konnte eine 13,5-prozentige Vakuolisierung in den Proerythroblasten ermittelt werden. Bei einer Alkoholikerin waren 62,5% der Proerythroblasten im Vergleich zu 46% und 41% der beiden anderen Patienten vakuolisiert. Diese hatte jedoch eine histologisch grobtropfige Leberzellverfettung, pathologische Leberfunktionsproben (s. Seite 29) und einen niedrigeren Hb-Gehalt des Blutes als die beiden anderen Alkoholiker (Seite 29).

Nach 24 Stunden in vitro stieg der Anteil der Vakuolen bei allen Patienten, also auch bei den in vivo hämatologisch unauffälligen Personen rapide an, d.h. nach 24 Stunden waren Proerythroblasten aller untersuchten Personen teilweise mit Vakuolen versehen (s. Tabellen 2 und 4). Auch bei dem Jungen, der wegen einer Alkoholintoxikation eingeliefert wurde und im Originalpräparat keine Vakuolen hatte, stellten sie sich nach 24 Stunden ein (Tabelle 2, Abb. 18).

Da bei den Leberpatienten der prozentuale Anteil der Proerythroblasten ab dem 3. Inkubationstag infolge der starken Rechtsverschiebung auf Grund der erhöhten Ausreifungstendenz minimal war, war die Beurteilung der prozentualen Verhältnisse der Vakuolen für längere Beobachtungszeit nicht exakt möglich (Tabelle 1 und 2, Abb. 4). Bei den Alkoholikern war die Zunahme der Vakuolen nach 24 Stunden noch deutlicher. Mit ansteigender Kulturzeit zeigten die Vakuolen wieder fallende Tendenz.

In der Granulopoese war bei den Leberpatienten in vivo der Anteil der vakuolisierten Zellen nur gering, bei den Alkoholikern deutlich erhöht, eben-

so bei dem 14-Jährigen, bei welchem die Erythropoese im Originalpräparat keine Vakuolen aufwies (Tabelle 4). Die Promyelozyten der von uns untersuchten Normalpersonen waren zu 1,9% vakuolisiert, die Myelozyten zu 0,7% (PRIBILLA ermittelte bei seinem Kollektiv von 10 hämatologisch unauffälligen Personen in der Gruppe der Myeloblasten, Promyelozyten und Myelozyten eine Vakuolisierung von 2,7%).

Nach 24 Stunden stieg wie in der Erythropoese der prozentuale Anteil der Vakuolen sowohl bei den Leberpatienten als auch bei den Alkoholikern mehr oder weniger stark an. Nach 48 Stunden verringerte sich die Zahl vakuolenhaltiger Zellen bei diesen Patientengruppen wieder mit Ausnahme der eosinophilen Zellen bei einem der Leberpatienten, die bis 72 Stunden steigende Tendenz zeigten (Tabelle 4).

Am 3. Bebrütungstag war bei den Promyelozyten der Alkoholiker und Leberpatienten, ebenso bei den reiferen Zellformen der Leberpatienten ein erneuter Anstieg zu verzeichnen.

Auch bei P e r n i c i o s a k r a n k e n konnten wir bereits in v i v o eine Vakuolisierung feststellen (Abb. 21). Etwa 30% der von uns zum Vergleich herangezogenen Original-Knochenmarkpräparate von 13 Patienten mit perniziöser Anämie zeigten in vivo eine Vakuolisierung oberhalb der Norm.

In der Erythropoese waren 13,5% der Proerythroblasten und 3,7% der basophilen Erythroblasten vakuolisiert. - In der Granulopoese zeigten 11,3% der Promyelozyten, 15,3% der Myelozyten und 16% der Metamyelozyten eine deutliche Vakuolenbildung.

DISKUSSION

A Proliferation der Knochenmarkzellen

Bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung fanden wir hinsichtlich der Proliferation in Übereinstimmung mit anderen Autoren (3,4,52,56,59,60) eine deutliche Vermehrung der Erythropoese (stark erniedrigter G/E Index - Tab. 5) und eine dementsprechende intensive Rückbildung der Granulopoese (3,4,59) in vivo. In Übereinstimmung mit GOLL (20) war die Mitoserate in der Erythropoese in vivo stark erhöht (Tab. 6). In vitro konnten wir weiterhin bestätigen, daß in der Erythropoese Reifung und Regeneration, die gesamte Proliferation, vermehrt war. - In der Granulopoese war in vitro eine Reifungsverzögerung bei mäßig erhöhter Regeneration, also ebenfalls eine Änderung der Proliferation festzustellen (Abb. 1 bis 5, Tab. 7).

Bei den Alkoholikern stellten wir fest, daß ein akuter Alkoholexcess offensichtlich eine Reifungshemmung der Granulopoese, nicht jedoch der Erythropoese darstellt, während die Regeneration unverändert ist.

Bei chronischen Alkoholikern ließ sich im Gegensatz zu den in vivo Untersuchungen von SULLIVAN und HERBERT (57), aber in Übereinstimmung mit anderen Autoren (47,62) eine Hemmung der Erythropoese in vitro nicht nachweisen, vielmehr war die Regeneration nach dem Mitoseindex (Tab. 6) und der karyologischen Kurve (Abb. 9) vermehrt. Die Zahl der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten in vivo war wie bei PRIBILLA (49) deutlich erhöht.

Die Vermutung von KILLBRIDGE (30), daß Alkohol in vivo zu einer beschleunigten Ausstoßung der jugendlichen roten Blutzellen in das periphere Blut führt, konnte in vitro bestätigt werden. Selbst der Vierzehnjährige mit akuter Alkoholintoxikation, dessen Knochenmark in vivo unauffällig war, zeigte in vitro eine extrem hohe Ausreifung der Erythropoese bei gleichzeitigem rapiden Anstieg des roten Mitoseindex. - In der Granulo-

poese konnten wir allerdings in Übereinstimmung mit MC FARLAND (43), der von einer Hemmung der Leukopoese berichtet, eine schlechte Ausreifung feststellen, obgleich die Regeneration in vitro nach dem Mitoseindex eher verstärkt war.

Chronischer Alkoholabusus mit Leberschaden scheint eine Potenzierung der Veränderungen der Proliferation in der Erythropoese und Granulopoese darzustellen (Abb. 7, Tabellen 5 - 7).

B Zellmorphologie der Knochenmarkzellen

Die morphologischen Untersuchungen zeigten in Übereinstimmung mit den eingangs erwähnten Autoren (12,34,40, 41,44,49,57,61), daß die Knochenmarkzellen von chronischen Alkoholikern Vakuolen aufweisen. Allerdings wurden Vakuolen nicht nur im Zytoplasma (PRIBILLA (49)) festgestellt, sondern in Übereinstimmung mit SULLIVAN (57) auch im Kern (Abb. 17). Weiterhin konnte bestätigt werden, daß offensichtlich die Vakuolisierung an der Zelle reversibel ist (49,57), da sie im Bereich derjenigen von Normalpersonen war, wenn die Sternalpunktion länger als 3 Tage zurücklag (4 Fälle).

Wie eingangs erwähnt, herrscht immer noch Unklarheit über Entstehung und Struktur der Vakuolen in den hämatopoetischen Zellen (12,32,36,40,44,61). Auf Grund unserer weitgestreuten Untersuchungen in vivo und in vitro kommen wir nun zur Ansicht, daß mehrere Faktoren mittelbar an der Entstehung der morphologischen Veränderungen beteiligt sein und deren Zusammenwirken das pathologische Bild verstärken können. Auf Grund der Tatsache, daß WATERS (61) und BOLL (12) keine Strukturelemente in den Vakuolen finden und BOLL (12) im Phasenkontrastmikroskop keine membranähnlichen Strukturen identifizieren konnte, sind wir der Ansicht, daß sie als Degenerationserscheinungen aufzufassen sind.

Zur Diskussion steht vor allem, daß die Vakuole das morphologische Äquivalent eines hypoxischen Milieus darstellt. Auf Grund der Tatsache, daß die Hämatopoese nach KONDI zu den Zellsystemen mit hoher Syntheseleistung gehört (32), wäre sie als schnell proliferierendes Gewebe geradezu prädisponiert für das frühzeitige Manifestwerden eines O_2 -Defizites. Die Bevorzugung der Proerythroblasten könnte damit begründet werden, daß diese Zellen keine Alkoholdehydrogenase besitzen (41).

Es ist bekannt, daß Alkohol über eine Beeinträchtigung des Atemzentrums ähnlich wie Morphin und Anästhetika eine Hypoventilation und damit eine respiratorische Acidose hervorruft (33). Jede respiratorische Acidose wiederum geht mit einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Hypoxie einher (33). Da Hypoxie einen starken Reiz für die Proliferation der Erythropoese darstellt, und bekanntlich die Produktion des Knochenmarks kompensatorisch bis auf das 6-fache gesteigert werden kann (14), könnten Alkoholiker trotzdem ein normales Blutbild haben. Bei den von uns untersuchten chronischen Alkoholikern war der Mitoseindex der roten Reihe um ein vielfaches gegenüber der Norm erhöht. Neben dieser starken Regeneration lag die Zahl der Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten deutlich über dem Normbereich. Dieses vermehrte Erythrozytenangebot könnte als Kompensationsmechanismus einer eventuellen intracellulären Hypoxie aufgefaßt werden.

Im Gegensatz zu chronischem Alkoholabusus scheint allerdings eine einmalige akute Alkoholintoxikation - wie wir an dem 14-jährigen Patienten feststellen konnten - noch nicht zu einem Defekt der roten Knochenmarkzellen zu führen (Tabelle 2). Die Tatsache, daß in den Vorstufen der weißen Reihe bereits Vakuolen in geringer Vermehrung aufgetreten waren (Tabelle 4),

könnte den Schluß nahelegen, daß diese schneller und leichter zu schädigen seien, was sich durch die Reifungshemmung der Granulopoese in vitro bestätigte.

Ein mittelbarer bzw. additionaler Einfluß der Leber auf die Genese der Vakuolen bei chronischen Alkoholikern bleibt nicht ausgeschlossen, da schon bei $2/3$ der Leberzirrhotiker ohne Alkoholabusus, wenn auch in geringerer Anzahl, Vakuolen gefunden wurden (Tabelle 2, Tabelle 4). Hierbei sei zu erwähnen, daß die Patienten mit Leberzirrhose sich im Finalstadium befanden. Allerdings waren die Vakuolen im Vergleich zu denen der Alkoholiker winzig (Abb. 19). Während ROHR das Vorkommen von Vakuolen in den granulopoetischen Vorstufen bei schwerem Leberleiden und besonders im Coma hepaticum erwähnt (52), konnten wir diese auch in Proerythroblasten finden.

Wie Untersuchungen von SCHWAB und Mitarbeitern ergaben, wird bei Leberzirrhotikern eine gegenüber Normalpersonen (0,29 l/Min.) deutlich erhöhte venöse Beimischung von 1,34 l/Min. gefunden. Dieses Shuntvolumen soll primär über eröffnete arteriovenöse Anastomosen im Lungenkreislauf entstehen (55). Ebenso konnte von verschiedenen Autoren bei fortgeschrittener Leberzirrhose eine Rechtsverschiebung der O_2 -Bindungskurve festgestellt werden (51).

Da chronischer Alkoholabusus häufig mit einer Leberzirrhose vergesellschaftet ist, könnte gerade die bei Zirrhotikern auftretende Hypoxämie einen unterstützenden Faktor für die Entstehung der Vakuolen darstellen. Bemerkenswert ist vor allem die Tatsache, daß wir bei der Kombination - Chronischer Alkoholabusus plus Fettleber (Fall Sch.E., Seite 29) - eine besonders starke Vakuolisierung fanden. Ähnliches berichtet PRIBILLA von einer Patientin, die im Coma hepaticum starb und bei der 95% der Proerythroblasten vakuolisiert waren.

Offensichtlich kommt es also bei einer zusätzlichen starken Beeinträchtigung der Leberfunktion zu einer Addition der hämatotoxischen Veränderungen. Von Chloramphenicol-intoxikationen, bei denen die gleichen morphologischen Veränderungen vorkommen (42), wird in analoger Weise berichtet, daß der Effekt verstärkt ist, wenn eine Einschränkung der Leberfunktion vorliegt (58).

Da eine Hypoxie neben einer Erhöhung des CO_2 -Gehaltes oder einem erniedrigten arteriellen pO_2 im Blut (51,55) auch auf dem Fehlen der notwendigen Hb-Mengen durch Anämie basieren kann, wurden Leukämien, perniciöse Anämien und eine Blutungsanämie der Untersuchung unterzogen.

Bei dem Knochenmark von 29 Patienten mit akuter Leukämie stellten wir bereits in vivo eine starke Vakuolisierung der Vorstufen beider Zellreihen fest, was eventuell auch auf den O_2 -Mangel zurückgeführt werden kann (Abb. 22). Dabei machten wir die Feststellung, daß die Stärke der morphologischen Phänomene offensichtlich umgekehrt proportional zum Hb-Gehalt des Blutes ist (Abb.16). Jenseits eines Hb-Wertes von 12 g% war keine auffallende Vakuolisierung mehr festzustellen. Unterhalb eines Hb-Wertes von 10 g% waren 91% der untersuchten Originalpräparate auffallend stark vakuolisiert.

Ein Patient, der weder einen Anhalt für eine Leukämie, noch für eine perniciöse Anämie bot, allerdings eine schwere Anämie (Hb von 5 g%) aufwies, zeigte ebenfalls in vivo und in vitro die typische Vakuolisierung. Die Häufigkeit der Vakuolen wurde in Abb. 15 graphisch aufgetragen.

Etwa 30% des von uns untersuchten Knochenmarks von 13 Perniciosakranken zeigte eine analoge Vakuolisierung ober-

halb der Norm (Abb. 15, Abb. 21).

Obgleich viele Autoren die Ursache für die Entstehung der Vakuolen bei chronischem Alkoholabusus auf ein Folsäure- bzw. Vitamin B₁₂-Defizit zurückführen (49,57), zweifeln LINDENBAUM und LIEBER (40) einen Einfluß des Folsäuremangels an, mit der Argumentation, die Vakuolisierung ist auch bei ausreichender Folsäurereserve vorhanden. Sie könnte allerdings auch in diesem Falle ihre Begründung in einem hypoxischen Milieu des Knochenmarks bei perniziöser Anämie finden.

Neben den oben beschriebenen Hypoxämien könnte bei unserer Versuchsanordnung in den Kulturen eine gewisse Hypoxie im Spiele sein, da - wie bereits erwähnt - die Kulturen luftdicht abgeschlossen bis zu 72 Stunden inkubiert wurden. Da jedoch vakuolisierte Zellen - wie wir feststellen konnten - zur Zellteilung (Abb. 18) und Ausreifung fähig sind, scheint der eingeschlossene Sauerstoff - wie auch HERTING experimentell feststellen konnte (27) - für die Fortsetzung der Proliferation auszureichen. Allerdings könnte er eine derart kritische Konzentration erreichen, daß die Zellintegrität nicht mehr gewährleistet ist.

In vitro stellten wir folgende Kriterien einer möglichen Hypoxie fest:

1. Selbst Normalpersonen, bei denen in vivo keine Vakuolen aufgetreten waren, zeigten nach 24 Stunden eine deutliche Vermehrung der Vakuolen (Tab. 2 und 4)(62).
2. Das Knochenmark einer akuten Alkoholintoxikation, das in vivo in der roten Reihe noch keine Vakuolen zeigte, brachte nach 24 Stunden in vitro die gleiche typische Vakuolisierung (Tabelle 2, Abb. 18).

3. Das Knochenmark von Alkoholikern, das in vivo bereits stark vakuolisiert war, erfährt in vitro nach 24 Stunden eine zusätzliche Vermehrung der vakuolisierten Zellen. Dies wurde bei normalem Knochenmark unter 2%o Äthylalkohol-Zusatz auch von WILDANGER (62) beobachtet. Daraus könnte man schließen, daß die Hypoxie, die möglicherweise durch chronische Alkoholintoxikation hervorgerufen wird, unter Kulturbedingungen noch verstärkt würde, und zwar in etwa um den Prozentsatz, der auch bei Normalpersonen nach 24 Stunden erreicht wird (Tab. 2 und 4).
4. Die Vakuolen, die in den Zellen der Leberzirrhotiker auftraten, waren in vivo, speziell in den Proerythroblasten, im Vergleich zu den Alkoholikervakuolen nur winzig (Abb. 19), nahmen jedoch während der Bebrütungszeit an Größe zu und erreichten nach 72 Stunden die der Alkoholikervakuolen (Abb. 20), so daß man gelegentlich von einer wabenartigen Struktur des Zytoplasmas sprechen konnte.

Danach korreliert die Vakuolisierung in vitro mit der durch Hypoxämie verursachten bei Anämie (Blutung, perniziöse Anämie, sekundär bei akuten Leukämien), bei Leberzirrhose und bei chronischem Alkoholismus.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurden Proliferation und morphologische Veränderungen der Knochenmarkszellen bei akuter und chronischer Alkoholintoxikation ohne Hepathopathie bzw. in Kombination mit Leberschaden in vivo und in vitro bis zu 72 Stunden Kulturdauer geprüft, da bisher vorliegende quantitative und qualitative morphologische Aussagen sich nur auf in vivo gewonnene Ergebnisse stützten. Patienten mit chronischer Lebererkrankung ohne Alkoholabusus wurden zum Vergleich herangezogen.

Bei Letzteren konnten wir bereits in vivo nicht nur in der Granulopoese, sondern auch in der Erythropoese Vakuolen finden. Allerdings waren diese, speziell in den Proerythroblasten, im Vergleich zu den Vakuolen von Alkoholikern nur winzig.

Eine einmalige akute Alkoholintoxikation führte noch nicht zu einem Defekt der Vorstufen der roten Reihe in vivo, verursachte aber eine Vakuolisierung der Granulopoese bei gleichzeitiger Reifungshemmung.

Bei chronischen Alkoholikern konnte das Vorkommen von Vakuolen in vivo bestätigt werden, ebenso daß diese morphologischen Phänomene an der Zelle offensichtlich reversibel sind.

In der Kulturzählung erwies sich in Übereinstimmung mit den in vivo Untersuchungen, daß die Proliferation - Reifung und Regeneration - der Erythropoese bei Alkoholintoxikationen gesteigert ist. Hingegen war die Reifung der Granulopoese gehemmt.

Weiterhin stellten wir auf Grund unserer weit gestreuten Untersuchungen fest, daß nach 24 Stunden Kulturzeit

der Anteil der Vakuolen bei a l l e n Patienten, also auch bei den in vivo hämatologisch unauffälligen Personen, anstieg, d.h. nach 24 Stunden Kulturzeit waren Pro-erythroblasten aller untersuchten Personen zu einem gewissen Teil mit Vakuolen versehen.

Die Vakuolenzahl von chronischen Alkoholikern und Leberzirrhotikern wurde in Kultur etwa um den Prozentsatz, der auch von Normalpersonen erreicht wird, vermehrt. Ein zusätzlicher Leberschaden verstärkt offensichtlich die Veränderungen der Proliferation und Morphologie, sowohl in vivo wie in vitro.

Ob bei den Alkoholikern eine gestörte Leberfunktion oder eine intrazelluläre Hypoxie die Ursache der Vakuolisierung ist, wird diskutiert. Für letztere Annahme spricht unter anderem die Vakuolisierung in Abhängigkeit vom Hb-Gehalt des Blutes bei Anämien und Leukämien.

LITERATUR

1. AMMON, H.P.T.: Influence of acute and chronic administration of alcohol on carbohydrate breakdown and energy metabolism in the liver.
Nature 216: 158 (1967)
2. BELITZ, H.J.: Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie.
Der Mathematikunterricht: Heft 3/60
Ernst-Klett-Verlag, Stuttgart
3. BERMAN, L.: The blood and bone marrow in patients with cirrhosis of the liver.
Blood 4: 511 (1949)
4. BERMAN, L.,
AXELBROD, A.R.,
JACOBSON, S.D.,
HORAN, T.N.,
VONDERHEIDE, E.E.,
SCHARP, E.A.: The blood and bone marrow in patients with cirrhosis of the liver.
J. Lab. clin. Med. 33: 1628 (1948)
5. BINGHAM, I.: Macrocytosis of hepatic disease (I.).
Blood 14: 694 (1959)
6. BINGHAM, I.: Macrocytosis of hepatic disease (II.).
Blood 15: 244 (1960)
7. BLEICHROEDER, F.: Über Lebercirrhose und Blutkrankheiten.
Virchows Arch. path. Anat. 177: 435 (1904)
8. BOLL, I.,
FUCHS, G.: Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro.
Blut 7: 257 (1961)
9. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.
Springer-Verlag, Heidelberg 1966
10. BOLL, I.,
MERSCH, G.: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro.
Blut 17: 193 (1968)

11. BOLL, I.,
MERSCH, G.: Morphologische Untersuchungen zur
Proliferationskinetik der normalen
und pathologischen Granulozytopoese
in vitro.
Blut 19: 257 (1969)
12. BOLL, I.,
v. WESTERNHAGEN, R.R.: Phase contrast observation of cyto-
plasmic vacuolation in erythroblasts
originated by chronic alcohol in-
toxication.
12. Int. Soc. Hemat., New York (1968)
13. CARREL, A.,
EBELING, A.H.: Pure Clutures of Large Mononuclear
Leucocytes.
I. exp. 36: 365 (1922)
14. FRICK, P.: Erythrocyten und Hämoglobin.
In W. Siegenthaler: Klinische Patho-
physiologie.
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart: 399
(1970)
15. FRICK, P.: Erythrocyten und Hämoglobin.
In W. Siegenthaler: Klinische Patho-
physiologie.
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart: 397
(1970)
16. FORSANDER, O.A.: Ethanol Metabolism.
Alkohol und Leber. Internationales
Symposion 1970 in Freiburg i.Br.
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart:
37 (1970)
17. FRIEDMANN, I.A.,
SCHWARTZ, S.O.: The relation between the liver and
the hemapoeitic system.
In H. Popper und F. Schaffner (Eds.):
Progress in liver diseases.
Vol. I. Grune & Statton, New York,
London (1965)
18. FUCHS, G.: Mathematische Theorie der Entwicklung
einer in vitro isolierten Knochen-
mark-Population und deren Anwendungs-
möglichkeiten.
Blut 11: 267 (1965)
19. GEROK, W.: Einleitende Worte zum Internationa-
len Symposion Alkohol und Leber,
1970 in Freiburg i.Br.

20. GOLL, K.H.: Die Indikation zur Knochenmarkpunktion bei nicht hämatologischen Erkrankungen.
4. Ungar. Hämatolog. Kongr., April 1968
21. HALL, C.A.: Macrocytosis of liver disease.
J.Lab.clin.Med 48: 345 (1956)
22. HALL, C.A.: Erythrocyte dynamics in liver disease.
Amer. I. Med. 28: 541 (1960)
23. HALSTED, Ch.H.,
GRIGGS, R.,
HARRIS, I.: The effects of alcoholism on the absorption of folic acid evaluated by plasma levels and urins excretion.
J. Lab. clin. Med. 69: 116-131 (1967)
24. HEILMEYER, L.,
BEGEMANN, H.: Handbuch der Inneren Medizin, Bd.II.
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1951)
25. HERBERT, V.R.,
ZALUSKY,
DAVIDSON, C.S.: Corelation of folate deficiency with alcoholism and associated macrocytosis, anaemia and liver disease.
Ann. Intern. Med. 58: 977 (1963)
26. HERBERT, V.: Hematopietic factors in liver disease.
In H.Popper und F.Schaffner (Eds.): Progress in liver diseases.
Vol.II Grune & Statton, New York, London (1965)
27. HERTING, M.: Dextrose bzw. Vitamin Zusätze zum Nährmedium von Knochenmark-Kulturen, untersucht mit der Pappenheim und PAS Färbung.
Dissertation in Vorbereitung
28. JANDL, I.H.,
LEAR, A.A.: Metabolism of folic acid in cirrhosis.
Ann. Intern. Med. 45: 1027 (1956)
29. JANDL, J.H.: Anemia of liver disease: Observations on its mechanism.
J. Clin. Invest. 34: 390 (1955)
30. KILLBRIDGE, T.M.,
HELLER, P.: Determinantes of erythrocyte size in chronic liver disease.
Blood 34: 739 (1969)

31. KIMBER, C.,
DELLER, D. I.,
IBBOTSON, R. N.,
LANDER, H.:
The mechanism of anemia in chronic liver disease.
Quart. J. Med. (N.S.) 34: 33 (1965)
32. KONDI, A.,
FOY, H.:
Vacuolisation of early erythroblasts in riboflavin deficient baboons and marasmus and kwashiorkor.
Lancet 2: 1157, (1964)
33. KRÜCK, F.:
Säure - Basenhaushalt.
In W. Siegenthaler: Klinische Pathophysiologie
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart: 206 (1970)
34. KUHN, D.,
MEISER, I.,
WAGNER, A.,
NEUBER, G.:
Passagere hämolytische Anämie bei Hyperlipämie und Leberschädigung infolge Alkoholismus (Zieve Syndrom).
Dtsch.med.Wschr. 37: 1634 (1966)
35. KUSCHINSKY, G.,
LÜLLMANN, H.:
Pharmakologie.
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart: 318, 320 (1970)
36. LANE, M.,
ALFREY, C. P.:
The Anemia of Human Riboflavin Deficiency.
Blood 25: 432 (1965)
37. LIEBER, C. S.:
Effects of Ethanol Administration: Adaptive Changes in Hepatic Metabolism of Ethanol and Drugs.
Alkohol und Leber. Internationales Symposium 1970 in Freiburg i.Br.
F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart: 129 (1970)
38. LIEBER, C. S.,
De CARLI, L.:
Ethanol oxidation by hepatic microsomes: Adaptive increase after ethanol feeding.
Science 162: 917 (1968)
39. LIEBER, C. S.,
De CARLI, M.:
Effect of drug administration on the activity of the hepatic microsomal ethanol oxidizing system.
Life Sci. 9: 267 (1970)
40. LINDENBAUM, J.,
LIEBER, C. S.:
Hematologic effects of alcohol in man in the absence of nutritional deficiency.
New Eng. J. Med. 281: 333-338 (1969)

41. McCURDY, P.R.,
PIERCE, L.E.,
RATH, C.E.: Abnormal bonemarrow morphology in
acute alcoholism.
New Eng. J. Med. 266: 505 (1962)
42. McCURDY, P.R.,
WASHINGTON, D.C.: Chloramphenicol bonemarrows toxi-
city.
I. Amer. Med. Ass. 176: 588 (1961)
43. McFARLAND, W.,
LIBRE, E.P.: Abnormal leucocyte response in alco-
holism.
Ann. Intern. Med. 59: 865 (1964)
44. MERKER, H.I.,
PRIBILLA, W.,
ALBRECHT, M.: Morphologische Untersuchungen an Ery-
throblasten von Alkoholikern.
12.Tagung Dtsch.Ges. Haematol.,
Berlin, 1966
45. MOELLER, K.O.: Pharmakologie als theoretische Grund-
lage einer rationellen Pharmakothera-
pie.
Verlag Schwabe & Co., Basel, Stutt-
gart (1966)
46. v.OLDERSHAUSEN: Alkoholische Leberschäden.
Therapiewoche Karlsruhe, 1966
47. v.OLDERSHAUSEN, H.-
F.: Betrachtungen zum Zieve Syndrom.
Ikterus, Internat. Symp., Freiburg,
Br., 1967
Schattauer-Verlag, Stuttgart, New
York (1968)
48. POST, R.M.,
DESFORGES, I.F.: Thrombocytopenic effect of ethanol
infusion.
Blood 31: 344 (1968)
49. PRIBILLA, W.,
HÄRTEL, G.,
ALBRECHT, M.: Veränderungen des Knochenmarks bei
chronischem Alkoholismus.
Med. Klin. 61: 1031 (1966)
50. RAPOPORT, S.: Medizinische Biochemie.
VEB Verlag Volk und Gesundheit,
Berlin: 942 (1966)
51. RODMAN, T.,
HURWITZ, I.K.,
PASTOR, B.H.,
Close, H.P.: Cyanosis, clubbing and arterial
oxygen unsaturation associated with
Laennec's cirrhosis.
Amer. J. med. Sci., N.S. 238: 534
(1959)
52. ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark.
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart (1960)

53. SCHEELY, T.W.,
BERMAN, A.: Anemia of cirrhosis.
J. Lab. clin. Med. 56: 72 (1960)
54. SCHULTEN, H.,
MALAMOS, B.: Über Veränderungen der roten Blut-
körperchen bei Lebererkrankungen.
Klin. Wschr. 11: 1338 (1932)
55. SCHWAB, M.,
SCHRODER, R.,
DISSMANN, Th.u.W.,
HEIMBURG, P.,
HÜTTEMANN, U.,
SCHÜREN, K.-P.: Venöse Beimischung und Lungenkreis-
lauf bei Leberzirrhose.
Klinische Wochenschrift 41: 469 -
484 (1963)
56. STROHMEYER, G.,
KUNI, H.: Eisenstoffwechsel der Erythrocyten
bei Leberzirrhose.
Ikterus, Intern. Symp., Freiburg, Br.,
1967
Schattauer-Verlag, Stuttgart, New
York (1968)
57. SULLIVAN, L.W.,
HERBERT, V.: Suppression of hematopoiesis by
ethanol.
J. clin. Investigation 43: 2048-
2052 (1964)
58. SUTHERLAND, L.G.,
WEISBERGER, A.S.: Chloramphenicol Toxicity in Liver
and Renal Disease.
Arch. intern. Med. 112: 747 (1963)
59. TAI, Hon-Bing: Quantitative Veränderungen der Hämo-
poese bei chronischer Hepatitis,
Fettzirrhose und atrophischer Le-
berzirrhose
Blut 10: 67 - 81 (1964)
60. TISCHENDORF, W.: Über die Veränderung von Knochenmark
und Blutbildung bei Leber- und Gal-
lenleiden.
Dtsch. Arch. klin. Med. 182: 261
(1938)
61. WATERS, A.H.,
MORLEY, A.A.,
RANKIN, I.G.: Effect of alcohol on haemopoiesis.
Brit. med. J. 2: 1565 (1966)
62. WILDANGER, I.: Die Veränderung der Zellmorphologie
und der Proliferationskinetik des
Knochenmarks unter 2%o Alkoholein-
wirkung in vitro. Inaugural-
Dissertation (1970)
63. WOHLNEBERG, H.: Ist die Furcht vor einer knochenmark-
schädigenden Wirkung von Chlorampe-
nicol unbegründet?
Dtsch. Med. Wschr. 43: 2240-2241 (1969)

An dieser Stelle möchte ich mir erlauben,
Frau Professor Dr.med.Irene Boll für die
Überlassung des Themas und für die jeder-
zeit freundliche Hilfe herzlich zu dan-
ken.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor
Dr.H.J.Belitz für die Überprüfung der
Signifikanzberechnungen.

LEBENS LAUF

Am 30.06.1944 wurde ich als Sohn des Leutnants Gottfried Weingärtner und seiner Ehefrau Rosl, geborene Schubertrügmer, in Würzburg geboren.

Nach dem Besuch der einklassigen Volksschule in Untereuerheim, Landkreis Schweinfurt, und einer auf das Gymnasium vorbereitenden Heimschule nahe Würzburg, trat ich im September 1956 in das Humanistische Gymnasium Schweinfurt ein. Ich war Schüler dieser Schule bis zur 7. Klasse (Obersecunda). Die beiden letzten Klassen besuchte ich am Schönborn-Gymnasium in Münsterstadt, wo ich im Juli 1965 meine Reifeprüfung ablegte.

Anschließend leistete ich meinen Wehrdienst ab. Bei der Bundesluftwaffe avancierte ich zum Oberleutnant d.Res.

Am 15. Oktober 1966 begann ich mein Medizin-Studium an der Freien Universität Berlin. Im Oktober 1969 bestand ich das Physikum und am 8. März 1973 das Staatsexamen an dieser Universität.

